

UNIVERSIDAD DE SALAMANCA

DEPARTAMENTO DE MEDICINA



TESIS DOCTORAL

**“IMPLICACIONES PRONÓSTICAS EN
LOS SUBTIPOS MOLECULARES DE
CÁNCER DE MAMA”**

ROSA GONZÁLEZ DEL RÍO

2011

DIRECTORES:

PROF. DR. D. JUAN JESÚS CRUZ HERNÁNDEZ

PROF. DR. D. IGNACIO CRUZ GONZÁLEZ

PROF. DR. D. JUAN JESÚS CRUZ HERNÁNDEZ. CATEDRÁTICO DE MEDICINA DE LA UNIVERSIDAD DE SALAMANCA.

PROF. DR. D. IGNACIO CRUZ GONZÁLEZ. PROFESOR ASOCIADO DE MEDICINA DE LA UNIVERSIDAD DE SALAMANCA.

CERTIFICAN

Que el presente trabajo titulado “Implicaciones pronósticas en los subtipos moleculares de cáncer de mama”, realizado por Dña. Rosa González Del Río bajo su dirección en el Departamento de Medicina, reúne, a su juicio, todos los requisitos exigidos para ser presentado ante el tribunal correspondiente y optar al grado de Doctor por la Universidad de Salamanca.

Y para que así conste, y a los efectos oportunos, firman la presente en Salamanca a diecisiete de febrero de dos mil once.

D. JUAN JESÚS CRUZ HERNÁNDEZ
CATEDRÁTICO de MEDICINA

D. IGNACIO CRUZ GONZÁLEZ
DOCTOR EN MEDICINA

A mi padre

A mi familia

AGRADECIMIENTOS

Al Prf. Cruz Hernández, director de esta tesis, porque sin sus conocimientos, ánimo, apoyo y dedicación horaria, hubiese sido literalmente imposible la realización de la misma. A Juan Jesús, la persona al lado de la que llevo caminando durante casi toda mi vida, por ser un ejemplo permanente de calidad humana y profesional, por ser mi “complemento” y por ser capaz de hacerme sentir en todo momento querida y apoyada.

Al Dr. Ignacio Cruz, co-director de este proyecto, por su paciencia infinita y por realizar la ardua tarea estadística.

Al Dr. Fernando Cruz, por su apoyo e inestimable ayuda en mi “pelea” con la informática.

Al servicio de Oncología Médica, del Complejo Asistencial de Salamanca, por permitir la utilización de su base de datos.

Al Departamento de Enfermería de la Universidad de Salamanca, por poner toda su infraestructura a mi disposición.

A mis padres, sin su ejemplo, esfuerzo y sacrificio, no podría haber llegado hasta aquí. A mi padre que, donde quiera que esté, estoy segura que seguirá cuidándome, apoyándome y disculpando mis errores, con el mismo altruismo del que hizo gala durante toda su vida.

A mis hijos, Ignacio y Fernando, por ser una fuente inagotable de alegría y satisfacción. Me siento tremendamente orgullosa de su trayectoria profesional, pero muy especialmente de la humana. A María que con su cariño y generosidad se ha convertido en una hija más y de la que por las mismas razones anteriores me siento igualmente orgullosa. A Cristina por su sonrisa permanente y por su alegría contagiosa.

A Mabel y José M^a, gracias a ellos he sabido lo que significa tener buenos hermanos. A mis sobrinos por su cariño, por estar siempre ahí y por permitirme participar en sus vidas.

A Luci, por ayudarme en la importante tarea de criar a mis hijos y por seguir aguantándome y facilitándome la vida.

A mis amigos (especialmente a los que por proximidad física han tenido que soportarme durante la realización de esta tesis), a los de verdad, a los que son capaces de hacerme sentir su presencia siempre, pero especialmente en los momentos difíciles. A todos y cada uno de ellos, muchas gracias.



ÍNDICE

INTRODUCCIÓN	2
1. EPIDEMIOLOGIA	2
2. FACTORES DE RIESGO	4
2.1. Edad, sexo y raza	4
2.2. Factores hormonales y reproductivos	5
2.3. Factores ligados a la dieta y estilo de vida	7
2.4. Antecedentes personales	8
2.5. Exposiciones ambientales y ocupacionales	8
2.6. Susceptibilidad genética	9
3. FACTORES PRONÓSTICOS Y PREDICTIVOS	11
3.1. Estado de los ganglios axilares	12
3.2. Tamaño tumoral	14
3.3. Grado histológico	15
3.4. Tipo histológico	15
3.5. Invasión linfática y vascular	15
3.6. Edad	16
3.7. Receptores hormonales	16
3.8. HER2	17
3.9. Otros biomarcadores	18
4. SUBTIPOS MOLECULARES DE CÁNCER DE MAMA	19
4.1. Perfiles moleculares de cáncer de mama	19
4.2. Correlaciones entre los subtipos intrínsecos y subtipos por inmunohistoquímica	21
4.2.1. Subtipo Luminal A	22
4.2.2. Subtipo Luminal B	22
4.2.3. Subtipo HER2	23
4.2.4. Subtipo Basal Like	24
4.3. Subtipos intrínsecos y correlaciones clínicas	24
4.3.1. Frecuencia de subtipos intrínsecos	24
4.3.2. Subtipos intrínsecos, edad y otros datos demográficos	26
4.3.3. Subtipos intrínsecos y estado menstrual	26
4.3.4. Subtipos intrínsecos y anatomía patológica	26
4.3.5. Subtipos intrínsecos y tamaño del tumor	27
4.3.6. Subtipos intrínsecos y afectación ganglionar	27
4.3.7. Subtipos intrínsecos y grado histológico	28
4.3.8. Subtipos intrínsecos y supervivencia libre de enfermedad	28
4.3.9. Subtipos intrínsecos y recaídas	30

4.3.10. Subtipos intrínsecos y supervivencia global	32
4.3.11. Subtipos intrínsecos y respuesta a la quimioterapia	34
HIPÓTESIS Y OBJETIVOS	37
PACIENTES Y MÉTODOS	40
1. PACIENTES	40
2. METODOLOGÍA DEL ESTUDIO	41
2.1. Selección de las pacientes	41
2.1.1. Criterios de inclusión	41
2.1.2. Criterios de exclusión	41
2.2. Estudios realizados a las pacientes incluidas	42
2.3. Análisis de los datos	43
2.4. Metodología empleada para el análisis de los resultados	45
2.5. Análisis estadístico	45
RESULTADOS	47
1. DATOS DEMOGRÁFICOS Y FACTORES DE RIESGO	47
1.1. Edad	47
1.2. Estado menstrual	47
1.3. Edad de la menarquia	47
1.4. Edad de la menopausia	47
1.5. Paridad	47
1.6. Edad del primer parto	48
1.7. Lactancia materna	48
1.8. Antecedentes familiares oncológicos	48
2. CARACTERÍSTICAS DEL TUMOR	49
2.1. Tipos anatomopatológicos	49
2.2. Características de al T.	49
2.3. Características de la N.	49
2.4. Características del grado de diferenciación tumoral	50
3. SUBTIPOS INTRÍNSECOS DE CÁNCER DE MAMA	51

4. ESTUDIO DE LAS CORRELACIONES DE LOS SUBTIPOS INTRÍNSECOS CON LAS VARIABLES DEMOGRÁFICAS Y FACTORES DE RIESGO	52
4.1. Subtipos intrínsecos y edad al diagnóstico	52
4.2. Subtipos intrínsecos y estado menstrual	52
4.3. Subtipos intrínsecos y edad de la menarquia	52
4.4. Subtipos intrínsecos y edad de la menopausia	53
4.5. Subtipos intrínsecos y número de hijos	53
4.6. Subtipos intrínsecos y edad del primer parto	53
4.7. Subtipos intrínsecos y lactancia materna	54
4.8. Subtipos intrínsecos y antecedentes familiares de cáncer de mama	54
5. ESTUDIO DE CORRELACIONES DE LOS SUBTIPOS INTRÍNSECOS Y LAS CARACTERÍSTICAS DEL TUMOR	55
5.1. Subtipos intrínsecos y tipo anatomopatológico	55
5.2. Subtipos intrínsecos y distribución y correlaciones con la T.	55
5.3. Subtipos intrínsecos y distribución y correlaciones con la afectación ganglionar	59
5.4. Subtipos intrínsecos y distribución y correlaciones con el grado histológico	63
6. SUPERVIVENCIA GLOBAL (S.G.)	67
6.1. S.G., grupo completo	67
6.2. S.G., según el tamaño del tumor	68
6.3. S.G., según afectación ganglionar	69
6.4. S.G., según grado de diferenciación tumoral	70
6.5. S.G., por subtipos intrínsecos	71
6.6. Supervivencia global. Estudio multivariable	78
7. SUPERVIVENCIA LIBRE DE ENFERMEDAD (S.L.E.)	79
7.1. S.L.E., grupo completo	79
7.2. S.L.E., según el tamaño del tumor	80
7.3. S.L.E., según la afectación ganglionar	81
7.4. S.L.E., según el grado de diferenciación tumoral	82
7.5. S.L.E., según los subtipos intrínsecos	83
7.6. Supervivencia libre de enfermedad. Estudio multivariable	90
8. TIPO DE RECAÍDAS	91
8.1. Tipo de recaídas, según el tamaño tumoral	91
8.2. Tipo de recaídas, según el grado de diferenciación tumoral	92
8.3. Tipo de recaídas, según la afectación ganglionar	92
8.4. Tipo de recaídas, según los subtipos intrínsecos	92

DISCUSIÓN	97
------------------	-----------

CONCLUSIONES	106
---------------------	------------

BIBLIOGRAFÍA	108
---------------------	------------



INTRODUCCIÓN

1.- EPIDEMIOLOGÍA

El cáncer de mama es la neoplasia maligna mas frecuente entre las mujeres occidentales, por lo que constituye un importante problema de salud pública. Se estima que en 2002 se diagnosticaron en todo el mundo mas de un millón de casos, lo que supone, aproximadamente, el 23% de todos los nuevos diagnósticos de cáncer en mujeres. La incidencia y mortalidad de esta patología presentan una gran variabilidad geográfica, observándose una mayor incidencia en Norteamérica, Australia, Países Nórdicos, Europa occidental y Argentina (Ferlay et al. 2007, Parkin et al. 2005).

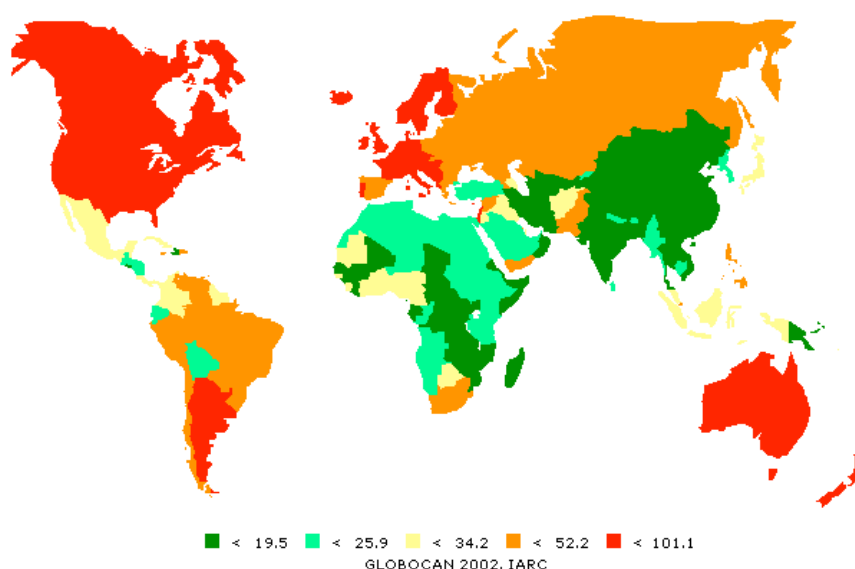


Figura 1.- Tasas de incidencia de ca. de mama estandarizadas por edad en el mundo. Casos/100.000 mujeres/año

En la Unión Europea, según datos de 2006, se diagnosticaron unos 430.000 casos al año y la probabilidad de desarrollar un cáncer de mama antes de los 75 años es del 8% (Thümmeler et al. 2009).

Durante el siglo XX se produjo un importante incremento de la incidencia, motivado tanto por los cambios en los hábitos de vida como por la mejora de las técnicas diagnósticas. En las últimas décadas del siglo aparece un aumento en países que tradicionalmente mostraban las tasas mas bajas y una estabilización en aquellos en los que las tasas de incidencia habían sido mayores en los años previos, atenuándose las diferencias geográficas observadas hasta entonces (Botha et al. 2003, Sankila et al. 2003).

La mortalidad también ha tenido una evolución llamativa, en la mayoría de los países desarrollados, sufrió un importante aumento desde los años 50 hasta la década de los 80 (Botha et al. 2003, Sankila et al. 2003). Sin embargo, los programas de diagnóstico precoz y el éxito de los nuevos tratamientos han hecho que esta tendencia comenzara a invertirse desde los 90. En Europa, la supervivencia a 5 años aumentó entre 1992 y 2002, en un 1,6 anual, situándose actualmente entorno al 83%, si bien aun existen diferencias entre los países de la Unión Europea, oscilando en 2002, entre 73%

en Polonia y el 85% en Suecia (Thümmeler et al. 2010, Verdecchia et al. 2007, Brenner et al. 2007, Verdecchia et al. 2009, Berrino et al. 2007).

En España, afecta a una de cada 13 mujeres y se diagnostican alrededor de 16.000 casos nuevos al año, ocasionando anualmente la muerte de unas 6.000 mujeres (López-Avente et al. 2009, Pollán et al. 2009, M.S.C. 2006). La evolución de los datos de incidencia en España ha sido paralela al resto de los países desarrollados y actualmente supone casi el 25% de todas las neoplasias malignas diagnosticadas en mujeres. Se pueden estimar a partir de los datos aportados por los distintos registros de cáncer localizados en algunas provincias o comunidades autónomas. Así, en el período comprendido entre los años 1986 y 1987, se registraron 40,7 casos por 100.000 mujeres en la provincia de Granada y 74,8 casos por 100.000 en Gerona. Si se analiza la tendencia temporal de la incidencia de esta enfermedad en dos de los registros mas antiguos, Navarra y Zaragoza, se observan incrementos medios quinquenales del 10,9% y 5,1% respectivamente, en el período entre 1973 y 1987 (Ascunce et al. 2007, M.S.C. 2006).

La tasa de mortalidad (ajustada por 100.000 habitantes) fue de 14,08 en el año 2003. Las comunidades autónomas que presentan una mayor mortalidad por cáncer de mama son, Aragón (18,40), Asturias (17,45) y Castilla-León (16,54). Por el contrario, las comunidades autónomas que registraron menores tasas de mortalidad fueron Canarias (10,03), Murcia (10,48) y Ceuta-Melilla (11,58).

Dicha mortalidad, igual que en el resto de los países desarrollados, mostró una tendencia creciente en décadas anteriores, ha comenzado a descender desde el año 1992, a un ritmo del 1'82% anual en todos los grupos de edad, aunque es más acusado en mujeres menores de 45 años. Este descenso ha afectado a todas las comunidades autónomas, aunque el inicio del mismo se ha producido en momentos diferentes. El descenso mas significativo se produjo en Navarra (primera comunidad en implantar un programa de diagnóstico precoz), siendo del 8% anual desde 1995, seguido de La Rioja y Castilla-León (López Avente et al. 2009, Pollán et al. 2003).

Respecto a la situación en Castilla-León, según el Informe Anual del Sistema Nacional de Salud de la Comunidad de Castilla-León del año 2006 (J.C. y L. 2006), los fallecimientos por cáncer de mama en este año, representaban una tasa bruta de 15,37/100.000 habitantes, lo que evidencia el descenso que viene ocurriendo desde hace varios años ya que, en el año 2003 se registro una tasa de mortalidad de 16,54/100.000 habitantes. Este descenso puede ser atribuible, no solo a la detección precoz, sino también al incremento en el empleo de tratamientos adyuvantes con quimioterapia y/o hormonoterapia (Mac Mahon et al. 2008).

2.- FACTORES DE RIESGO

La etiología del cáncer de mama es multifactorial y es el resultado de una serie de fenómenos celulares que ocurren de forma constante en el tiempo. Algunos factores aumentan la posibilidad de padecer un cáncer de mama, pero a pesar de ello, el 80% de los casos no tienen aparentemente ninguna relación con dichos factores de riesgo (Gomez et al. 2008, Burstein et al. 2008).

Riesgo relativo < 2	Riesgo relativo 2-4	Riesgo relativo ≥ 4
Menarquia temprana	Familiares de 1º grado con ca. de mama	Mutación en BRCA 1 y 2
Menopausia tardía	Primípara > de 35 años	Mut. Otros genes de alta penetrancia
Nuliparidad	Hiperplasia sin atipia	Carcinoma Lobulillar in situ
Terapia hormonal sustitutiva	Mamas mamográficamente densas	Hiperplasia atípica de la mama
Alcohol	Variantes genes de alta penetrancia	Radiaciones ionizantes
Tabaco		
Obesidad		
Edad > 55 años		
Variantes genes de susceptibilidad		

Tabla 1. Magnitud del riesgo relativo de cáncer de mama estimado para diferentes factores (modificado de Bunstein et al. 2008).

2.1.- EDAD, SEXO Y RAZA

La máxima frecuencia de cáncer de mama se sitúa entre los 50 y 60 años y su incidencia aumenta de manera gradual desde los 30 (< 1/100.000) hasta los 50-60 años, en los que se estabiliza, volviendo a aumentar a partir de los 60 años hasta alcanzar las tasas mas altas alrededor de los 70 años (Kulka et al. 2002).

En mujeres es 100 veces mas frecuente que en hombres. (Dickson et al. 1997). El cáncer de mama masculino representa menos de 1% de los casos.

Existen también diferencias raciales, así en Norteamérica las mujeres blancas tienen una incidencia de 141 casos por 100.000, las de raza asiática de 97 por 100.000, en las latinas 90 por

100.000 y en las indias nativas de 55 por 100.000. Estas diferencias podrían atribuirse a factores tales como estilo de vida y nivel socio-económico; también podrían contribuir factores genéticos y biológicos (N.C.I. 1986).

2.2.- FACTORES HORMONALES Y REPRODUCTIVOS

Como hemos reflejado anteriormente, la incidencia de cáncer de mama en mujeres, en relación con la edad, posiblemente pueda justificarse debido a la caída de receptores de estrógenos circulantes (Burstein et al. 2008, Bolton et al. 2008, Santen et al. 2009). Los datos epidemiológicos, junto con las evidencias experimentales involucran a estas hormonas en la etiopatogenia de la enfermedad. El mecanismo por el que los estrógenos ejercen su función en los tejidos hormona-sensibles no se conoce por completo, aunque juegan un importante papel en la carcinogénesis clásicamente atribuido a la promoción de la división celular que tiene lugar tras la unión de estas hormonas a sus receptores, pero este no parece ser el único mecanismo, dado que la metabolización de estos compuestos puede originar quinonas, semiquinonas y radicales libres, que a su vez inducen la formación de aductos y otras mutaciones en el DNA (Raftogianis et al. 2000), que si no son correctamente reparadas, pueden conducir a una proliferación no regulada (Lierhr et al. 1977).

Los factores reproductivos son factores de riesgo bien establecidos, debido a que condicionan la exposición a estrógenos a lo largo de la vida y la estimulación estrogénica prolongada incrementa el riesgo de cáncer de mama (Lierh et al. 1977). La actividad hormonal endógena es la mas importante desde el punto de vista patogénico, si bien se reconoce cada vez mas la implicación de fuentes exógenas.

La duración del período fértil está directamente relacionada con el riesgo de cáncer de mama; así la menarquia temprana, sobre todo antes de los 12 años aumenta este riesgo 1,5 veces, mientras que cada año de retraso en la menarquia, reduce el riesgo un 4 %. La menopausia tardía duplica el riesgo respecto a la menopausia precoz, mientras que la privación estrogénica prematura, como se ha observado en mujeres sometidas a ooforectomía reduce el riesgo (Burstein et al. 2008).

En cuanto a la relación entre el embarazo a término y el desarrollo de cáncer de mama, se ha demostrado que las mujeres nulíparas presentan un riesgo de 1,5 a 3 veces mayor. También parece que las primíparas de mas de 35 años tendrían un riesgo igual o mayor que aquellas mujeres que no tienen descendencia. (Lierh et al. 1997). El embarazo tiene un doble efecto, a corto y a largo plazo, ya que se asocia un incremento del riesgo inicial ligado al aumento de las hormonas circulantes, pero a la larga constituye un factor de protección, debido a la maduración del tejido mamario. La mama puberal y la de las mujeres nulíparas está constituida principalmente por estructuras lobulares y conductos indiferenciados. En estudios con animales, las células epiteliales mamarias indiferenciadas tenían mayor susceptibilidad a la transformación neoplásica por acción de los carcinógenos que las células bien diferenciadas (Raftogianis et al. 2000, Liehr et al. 1997); por tanto, un embarazo a término es un factor de

protección frente al cáncer de mama ya que provoca la diferenciación final del tejido mamario (**Lierh et al. 1997**). Esta maduración se produce muy tardíamente en el caso de las primíparas mayores de 35 años, lo que sumado al incremento de los niveles de estrógenos propios de la gestación hace que estas mujeres no se beneficien del efecto protector del embarazo a término.

Por otra parte, parece que las primíparas con menos de 18 años presentan menor riesgo; esto se debe a que el primer embarazo se relaciona con cambios permanentes en el epitelio glandular y en las propiedades biológicas de las células mamarias. Después del embarazo las células epiteliales tienen un ciclo celular mas largo y permanecen mas tiempo en fase G₁, (**Burstein et al. 2008**) en la cuál actúan los mecanismos de reparación del DNA; por tanto la susceptibilidad del tejido mamario a la carcinogénesis disminuiría después del primer embarazo.

De igual manera la lactancia prolongada, podría ejercer un efecto protector proporcional al tiempo de duración de la misma (**Dumitrescu et al. 2005**).

En cuanto a los abortos espontáneos e inducidos, parece que las células mamarias son mas vulnerables a las mutaciones cuando se encuentran mas indiferenciadas y su crecimiento es mas rápido, por ejemplo en la adolescencia o en el embarazo; en el tercer trimestre del embarazo las células se diferencian y la susceptibilidad a las mutaciones disminuye (**Burstein et al. 2008**) sin embargo en los abortos precoces no tiene lugar esta diferenciación. Los trabajos realizados en este campo no son concluyentes (**Santen et al. 2009**).

La implicación de los estrógenos exógenos ha sido ampliamente discutida, la relación entre la terapia hormonal sustitutiva y el desarrollo de cáncer de mama ha sido muy controvertida. Actualmente se acepta que este tipo de tratamiento conlleva un pequeño, pero significativo incremento de riesgo que estaría en relación con el tipo de terapia (estrógenos mas progestágenos lo aumentaría), la duración (tras 10-20 años) y la dosis de la misma (**Beral et al. 2003**).

Respecto al papel de los anticonceptivos hormonales, se han publicado datos en uno u otro sentido, si bien parece que producen un moderado incremento del riesgo de desarrollar cáncer de mama, que desciende progresivamente al suspender su uso y que desaparece a los 10 años de finalización del tratamiento (**Burstein et al. 2008, Dumitrescu et al. 2005, Marchbanks et al. 2002**). Desde el año 2005 la organización mundial de la salud, ha clasificado a los contraceptivos orales como agentes carcinógenos clase 1 (**W.H.O. 2005**); sin embargo sigue existiendo controversia respecto a esta asociación reflejadas en publicaciones a favor y en contra.

Otra hormona relacionada con el cáncer de mama es la IGF-I, que estimula la proliferación de las células mamarias. La relación entre los niveles plasmáticos de IGF-I, su proteína transportadora IGFBP-3 y el cáncer de mama ha sido evaluada en estudios recientes, con resultados positivos en mujeres premenopáusicas (**Mc Tiernan et al. 2003**).

2.3.- FACTORES DE RIESGO LIGADOS A LA DIETA Y AL ESTILO DE VIDA

Los factores dietéticos han sido muy investigados, puesto que la dieta supone la exposición a una gran variedad de compuestos cancerígenos y anticancerígenos.

La asociación entre la dieta con elevado contenido en grasas y el riesgo de cáncer de mama lo describieron algunos estudios epidemiológicos, que reflejaron una incidencia de cáncer de mama superior en los países con elevado consumo de grasas (**Dumitrescu et al. 2005, Willet et al. 2000**), trabajos posteriores no han observado tal asociación. Los estudios con modelos animales demuestran que el consumo de grasas poliinsaturadas se asocia a la elevación de los niveles circulantes de estrógenos y progestágenos. Esta discordancia puede ser debida a la dificultad para evaluar la exposición individual a los factores dietéticos. No está claro si el incremento del riesgo es debido únicamente al consumo total de grasas o a una ingesta calórica excesiva (**Dumitrescu et al. 2005, Willet et al. 2000**). Hay estudios en los que se ha observado una resistencia a la insulina, debido a unos niveles permanentemente elevados de la hormona IGFs, que favorecen el turnover celular en la mayoría de los tejidos y que se ha asociado con el desarrollo de cáncer de mama (**Mc Tiernan et al. 2003**).

Parece que el consumo de frutas y verduras podría ser beneficioso, debido a que la fibra inhibe la reabsorción de estrógenos en el tracto digestivo, aunque no existen estudios concluyentes (**Willet et al. 2000, Burstein et al. 2008**).

Los estudios epidemiológicos y experimentales en relación con los alimentos que contienen fitoestrógenos son contradictorios y sus resultados no permiten obtener conclusiones firmes. Estos compuestos de débil actividad estrogénica, pueden interferir con la acción y el metabolismo de los estrógenos endógenos; existen distintos mecanismos de acción que podrían justificar el efecto protector de estas sustancias, sin embargo estudios realizados en animales muestran un efecto proliferativo sobre tumores hormonosensibles (**Willet et al. 2000**).

La obesidad se asocia al cáncer de mama, fundamentalmente, en mujeres postmenopáusicas (2-3 veces) y parece ser debido a un mayor nivel de estrógenos circulantes en mujeres con mayor cantidad de tejido adiposo, por la conversión de precursores de estrógenos a estrógenos (**Dumitrescu et al. 2005, Mc Tiernan et al. 2003, Hunter et al. 2000**).

La ingesta excesiva de alcohol aumenta la frecuencia del cáncer de mama en función de la dosis. Entre los mecanismos descritos, se incluye la influencia que ejerce sobre las concentraciones de estrógenos, la producción de radicales libres y metabolitos tóxicos como el acetaldehído y la alteración de la capacidad de reparación del DNA. Los polimorfismos de genes implicados en su metabolización, como GST (glutathion-S-transferasas), también parecen estar implicados (**Mc Tiernan et al. 2003**).

Los estudios epidemiológicos que han tratado de evaluar la asociación entre el hábito tabáquico y el cáncer de mama han dado resultados contradictorios. Parece que el tabaco produce un incremento del riesgo en aquellas mujeres que empezaron a fumar en los cinco años siguientes a la menarquia, debido a que los carcinógenos del tabaco actuarían sobre la mama en desarrollo, pero no en aquellas

que comienzan a fumar tras el parto, puesto que la mama habría completado su formación. No se ha demostrado ninguna asociación en el caso de las mujeres postmenopáusicas (**Band et al. 2002**).

2.4.- ANTECEDENTES PERSONALES

Las lesiones benignas de la mama sin un componente proliferativo no parecen asociarse a una mayor incidencia de cáncer de mama, como sucede con la enfermedad fibroquística, que conlleva un aumento del riesgo de cáncer de mama bilateral únicamente en los casos en que se acompaña de hiperplasia ductal atípica (**Fitzgibbons et al. 1998, McLaren et al. 2006**).

El carcinoma ductal "in situ" es considerado el paso previo del carcinoma invasivo, para lo que precisa una media de 6 a 10 años; mientras que el carcinoma lobulillar "in situ" suele ser multicéntrico y bilateral y no se considera estrictamente una lesión precancerosa, sino un marcador de riesgo para padecer cáncer de mama.

Tras desarrollar un cáncer de mama, el riesgo de afectación contralateral se incrementa hasta 10 veces (**Berstein et al. 2008**).

La presencia de un patrón mamográfico de alta densidad es un factor de riesgo al que se le concede una importancia creciente. Varios estudios epidemiológicos describen un aumento del riesgo de 1'8% a 6% en las mujeres con patrones mamográficos mas densos (**Boyd et al. 1995, Jong et al. 1995, Harvey et al. 2004**). Esta densidad varía en función de las variables reproductivas y de otros factores ambientales, aunque estudios en gemelos homo y heterocigotos muestran la importante contribución de la susceptibilidad genética en este patrón (**Brisson et al. 1982**).

Una historia familiar de cáncer de mama, aumenta la probabilidad individual de padecerlo, si bien la magnitud del riesgo varía dependiendo del grado de parentesco con el familiar afecto, de su estado hormonal y de si la enfermedad es o no bilateral. Así en mujeres cuya madre o hermana han padecido cáncer de mama, la probabilidad de padecerlo ellas mismas se incrementa hasta tres veces, (**Conzen et al. 2008**) aumentando hasta 9 veces en el caso de que el familiar de primer grado sea una mujer premenopáusica con afectación bilateral (**Gómez et al. 2008**).

2.5.- EXPOSICIONES AMBIENTALES Y OCUPACIONALES

La exposición a radiaciones ionizantes, antes de los 40 años, principalmente durante la infancia y la adolescencia, cuando las glándulas mamarias no han alcanzado aún su madurez, es importante factor de riesgo. Se ha establecido una relación lineal entre la dosis total recibida y el incremento del riesgo (**Ronckers et al. 2005**).

Mediante modelos animales se han identificado mas de 200 sustancias que actúan como carcinógenos mamarios y unas 250 que mimetizan o interfieren con la actividad de los estrógenos. Las sustancias mas estudiadas han sido los compuestos orgánicos persistentes, principalmente los PCBs en

los que se incluye el DDT y sus metabolitos; aunque los resultados son poco consistentes sugieren que la exposición a PCB podría incrementar hasta un 10-15% el riesgo de desarrollar cáncer de mama en las mujeres portadoras de algunas variantes genéticas responsables de su metabolización (Brody et al. 2007).

Otras exposiciones ocupacionales de riesgo incluyen el de las radiaciones ionizantes, el estireno, los solventes orgánicos, el óxido de etileno y los campos electromagnéticos (Brody et al. 2007).

2.6.- SUSCEPTIBILIDAD GENÉTICA

Una historia familiar de cáncer de mama es un conocido factor de riesgo, ya en 1866 el anatomista francés P.P. Broca publicó el caso de la familia de su esposa, en la que 10 de sus miembros a lo largo de cuatro generaciones habían fallecido a consecuencia de un cáncer de mama (Broca et al. 1866). Desde entonces, se han realizado numerosos trabajos para tratar de estimar el riesgo de una mujer de padecer cáncer de mama, en función del número de familiares afectas, del grado de parentesco y de la edad al diagnóstico. Hoy sabemos que si una mujer tiene un cáncer de mama, el riesgo de sus familiares de primer grado es el doble que el de la población general, mientras que si hay tres o mas familiares de primer grado diagnosticados de cáncer de mama, el riesgo aumenta hasta cuatro (Claus et al. 1994, C.G.H.F:B.C. 2001); factores como la edad temprana al diagnóstico o la bilateralidad, incrementan aún mas el riesgo, que puede ser hasta 9 veces mas alto que el de una mujer sin antecedentes familiares de cáncer de mama (Haites et al. 2000, Hodgson et al. 2007).

Penrose en 1948 se planteo la existencia de una posible alteración genética heredable, como responsable de la agregación familiar (Penrose et al. 1948), esta hipótesis se confirmó cuando a mediados de los años 90, se descubrió que mutaciones en los genes BRCA 1 y 2 eran responsables del síndrome del cáncer de mama y ovario hereditarios (Miki et al. 1994; Wooster et al.1995)

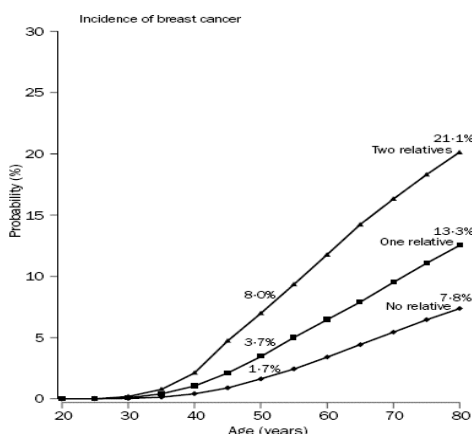


Figura 2.- Posibilidad de cáncer de mama, en función del número de familiares afectos (Miki et al. 1994; Wooster et al.1995)

Actualmente se considera que sólo el 5-10% de los cánceres de mama son hereditarios y que las mutaciones en BRCA 1 y BRCA 2, únicamente explican el 15-20% de todos los casos. Otros genes alterados en síndromes de cáncer familiar son p53, PTEN y AMT, que explicarían menos de un 10% de los cánceres de mama familiares (Haites et al. 2002, Balmain et al. 2003). Existe, por tanto, un gran porcentaje de familias con historia de cáncer de mama en varios de sus miembros en los que no se encuentra mutación en ninguno de los genes de alta penetrancia descritos. Esto podría deberse a la existencia de un hipotético “BRCA X” (Haites et al. 2002), no identificado actualmente.

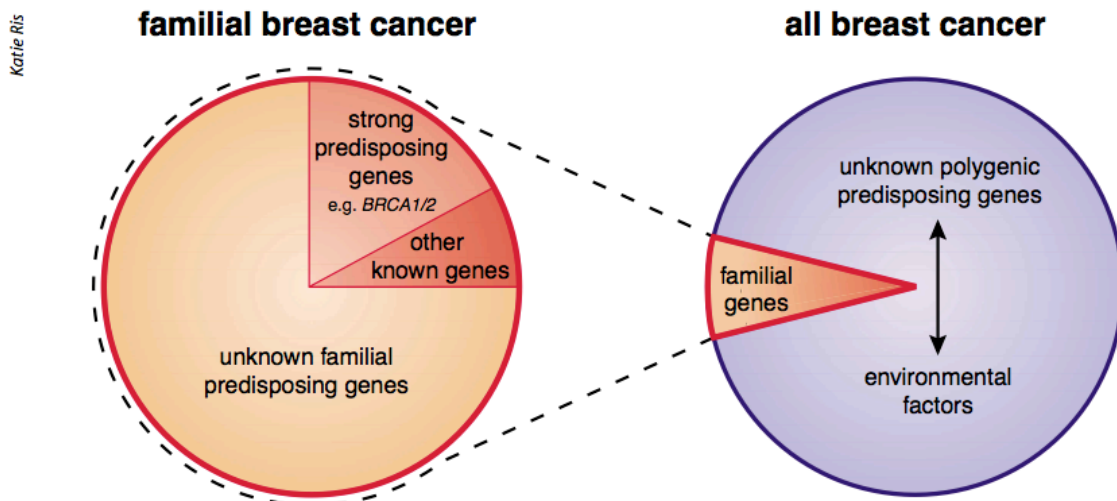


Figura 3.- Esquema modificado de Conzen et al. 2008

Otra posible explicación para esta agregación familiar y para la mayoría de los casos esporádicos, se encuentra en el modelo poligénico de susceptibilidad al cáncer, según el cual, la susceptibilidad heredada a padecer un cáncer de mama, no dependería de un único gen de alta predisposición sino que estaría determinada por la herencia de un conjunto de variantes alélicas de múltiples genes de baja predisposición (Pharoah et al. 2002).

3.- FACTORES PRONÓSTICOS Y PREDICTIVOS

Podemos definir como factor pronóstico a cualquier medida que se correlaciona de manera independiente con el período libre de enfermedad o supervivencia global, en ausencia de tratamiento y que se puede correlacionar con la historia natural de la enfermedad.

Se ha definido, también, el término factor predictivo como cualquier medida que se asocia a la respuesta o ausencia de la misma a un tratamiento (**Saccani et al. 1989**).

Las características de un factor pronóstico útil serían tener un valor predictivo significativo e independiente de que haya sido validado con pruebas clínicas. Su determinación ha de ser fácil, reproducible y ampliamente disponible, con controles de calidad. Ha de ser, también, fácilmente interpretable por el clínico y tener implicaciones terapéuticas (**Contesso et al. 1990**).

El valor de estos factores pronósticos radica en que, una vez estimado el riesgo, será posible seleccionar a pacientes que se beneficiarán de tratamientos complementarios y excluir a aquellas que no se van a beneficiar, de manera que podamos evitar efectos indeseables sin comprometer la supervivencia; por otra parte servirían para identificar a pacientes con muy mal pronóstico en las que esté justificado utilizar tratamientos mas agresivos (**Clark et al. 1994**).

En el año 1999, en la “Conferencia de Consenso del Instituto Nacional de Salud de Norteamérica”, se revisaron los factores pronósticos y predictivos del cáncer de mama y se agruparon en tres niveles, basados en la fortaleza de la evidencia de los datos publicados (**Fitzgibbons et al. 2000, Mc Shane et al. 2005**).

CATEGORIA I: Factores bien respaldados en la literatura, tamaño tumoral, ganglionar, tipo histológico, grado histológico, recuento del número de mitosis y estado de los receptores hormonales.

CATEGORIA II: Factores que se han estudiado, pero que precisan una validación estadística mas rigurosa, HER-2, p53, invasión vascular y marcadores de proliferación.

CATEGORIA III: Factores que no han sido del todo estudiados o que no han demostrado su valor pronóstico/predictivo, como ploidía, catepsina D y angiogénesis, entre otros.

Así, el “gold estándar” de cualquier factor pronóstico es estratificar y seleccionar pacientes que se benefician o no de la terapia adyuvante.

Factores pronósticos y predictivos del cáncer de mama locorregional

	FACTORES PRONÓSTICOS	FACTORES PREDICTIVOS
Con papel establecido	Edad	
	Tamaño tumoral	
	Tipo histológico	
	Ganglios axilares	RE / RP
	Grado histológico estandarizado	HER2
	RE / RP	
	HER2	
	P53	
	Invasión vascular	
	Angiogénesis	
Sin papel establecido	Marcadores de proliferación	
	Ploidia / fase S / Ki-67 / ciclinas	
	TOPO IIa	Micrometástasis en MO y/o SP
	Inh/Act. del Plasminógeno	
	Detección de micrometástasis en	
	- Ganglio axilar	
	- Médula ósea	
	- Sangre periférica	

Tabla 2.- Factores pronósticos y predictivos del cáncer de mama locorregional

3.1.- ESTADO DE LOS GÁNGLIOS AXILARES

La presencia de afectación tumoral en los ganglios linfáticos axilares es el factor pronóstico mas importante actualmente (Fisher et al. 1993, Carter et al. 1989, Michael et al. 2003, Michaelson et al. 2009), así el 70% de las pacientes con ganglios axilares positivos, recidivarán a los 10 años; mientras que las pacientes con ganglios axilares negativos, solo recidivaran en un porcentaje de un 20-30%.

El número de ganglios afectados también es un factor pronóstico. Para establecer el estado de los ganglios axilares afectados se requiere que sea revisado un número importante de los mismos; seria necesario obtener al menos 10 ganglios de la axila para definir el estado ganglionar, especialmente si este resulta negativo (Axelsson et al. 1992, Truong et al. 2005).

Tamaño en cm.	N-	N 1-3	N > 3
< 0,5	0,8	4,7	41
0,5 – 0,9	1,7	6	45,8
1 – 1,9	4,2	13,4	32,8
2 – 2,9	7,7	16,6	36,6
3 – 3,9	13,8	21	43,1
4 – 4,9	15,4	30,2	47,4
> 5	17,8	27	54,5

Tabla 3.- Mortalidad por cáncer de mama específica % a los 5 años. SERR. Surveillance, Epidemiology, and End Results (SEER). Program of the National Cancer Institute (Altekruse et al. 2010)

N-	N 1-3	N 4-12	N > 12
82,8%	73%	45,7%	28,4%

Tabla 4.-Supervivencia a los 5 años según la afectación ganglionar (NSABP). National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project (tomado de Fisher 1993)

El significado de la extensión periganglionar en la axila es controvertido. Algunos estudios no detectan una repercusión negativa en el pronóstico cuando se tiene en cuenta el número de ganglios afectados (Fisher et al. 1976) o cuando la extensión extraganglionar es microscópica (Donegan et al. 1993).

Focos microscópicos metastáticos (diámetro menor de 2 mm), en “axila negativa”, pueden detectarse entre el 9 y el 13% exclusivamente con hematoxilina-eosina, entre el 15 y el 20% de los casos con técnicas de inmunohistoquímica; sin embargo no existen datos suficientes para recomendar el uso rutinario de métodos inmunohistoquímicos o moleculares para detectar metástasis axilares y para cambiar la estadificación basándonos únicamente en la detección de células citoqueratina-positivas (Fitzgibbons et al. 2000, Rampul et al. 2001).

La estadificación axilar, a través de la evaluación patológica del primer ganglio de drenaje del área tumoral (biopsia del ganglio centinela), se ha desarrollado para evitar el vaciamiento ganglionar axilar en “axilas negativas” (Veronesi et al. 1997). El primer estudio de esta técnica en el cáncer de mama, que inicialmente fue utilizada en estadificación del melanoma, fue publicado por Giuliano y col. (Giuliano et al. 1994). Con las técnicas actuales es posible su detección en el 95% de las ocasiones (Albertini et al. 1996). Se ha demostrado que es una técnica sensible y específica para predecir el estado ganglionar (Krag et al. 1998, Weaver et al. 2000), pero no se ha validado todavía como equivalente en términos de supervivencia global y libre de enfermedad al vaciamiento axilar. Por otra parte y en cuanto a la

identificación de micrometástasis en el ganglio centinela, aunque pudiera tener significación pronóstica, no esta claro como utilizar este dato en el manejo terapéutico (**Cummings et al. 1996**).

El valor predictivo negativo de la afectación ganglionar es limitado, un 40% de las pacientes con ganglios positivos sobreviven mas de 10 años, mientras que entre un 20 y un 30% de las pacientes con ganglios negativos, desarrollan enfermedad metastásica en los 10 años posteriores al diagnóstico (**Smith et al. 2000, Medina et al. 2010**).

3.2.- TAMAÑO TUMORAL

El tamaño del tumor en los cánceres de mama tiene implicaciones pronósticas (**A.C.S. 2009**). Existe una fuerte correlación entre el tamaño tumoral y el riesgo de recidiva, incluso dentro de la categoría T1, hay variaciones en el riesgo; así tumores con un tamaño igual o menor de 1cm., tienen un excelente pronóstico respecto a tumores entre 1,1 y 2 cm. de diámetro. Según el análisis de mortalidad por cáncer de la SEER, cuando el tamaño, con ganglios negativos, es menor de 0,5 la mortalidad es de 0,8%, entre 0,5 y 0,9 sería del 1,7%, si el tamaño está entre 1 y 1,9 aumentaría hasta el 4,2%, entre 3 y 3,9 el 13,8%, entre 4 y 4,9 del 15% y si es mayor de 5 el riesgo sería del 17,8%.

De hecho, se considera el principal factor pronóstico en ausencia de afectación ganglionar. Está relacionado con el riesgo de desarrollar metástasis ganglionares y con el riesgo de recurrencia. Al mismo tiempo, la afectación axilar está en relación con el tamaño tumoral, siendo a veces difícil separar las dos variables, que tienen un pronóstico independiente, de tal modo, que el riesgo de recidiva tumoral se multiplica cuando coexisten ambos factores (**Michaelson et al. 2003, Michaelson et al. 2009**).

Un trabajo con casi 25.000 pacientes, con un seguimiento a largo plazo, en Estados Unidos ofrece datos de supervivencia global en relación al tamaño tumoral y la afectación axilar (**C.G.H.F.B.C. 2001**) en los resultados se encontró una relación directa entre el tamaño tumoral y la presencia de ganglios axilares, a partir de los 5 cm., el 71% de las pacientes tenían la axila infiltrada. Los autores demostraron que la tasa de mortalidad a los 5 años fue del 7% en pacientes sin afectación axilar y tumores menores de 3 cm. Cuando el número de ganglios afectados era de 1 a 3, la tasa de mortalidad aumentaba al 16,6% y 21% respectivamente y cuando el número de ganglios afectados era mayor de 3, la tasa de mortalidad se incrementaba hasta el 36,6% (en tumores menores de 3 cm.) y al 43,1% (cuando el tumor es mayor de 3 cm.).

Todos estos datos, indican que el tamaño tumoral tiene un importante impacto sobre la supervivencia, de manera que esta disminuye progresivamente a medida que aumenta el mismo (**Jemal et al. 2009**).

3.3.- GRADO HISTOLÓGICO

La correlación entre el grado de diferenciación histológico y el grado de malignidad se remonta a 1925 con Greenhough, que fue el primero en establecer esta relación.

La Organización Mundial de la Salud, distingue tres grados

- Grado I o bien diferenciado
- Grado II o moderadamente diferenciado
- Grado III o pobremente diferenciado

Esta clasificación tiene en cuenta elementos como formación tubular, pleomorfismo nuclear y número de mitosis presentes.

Varios estudios han confirmado que trata de un factor con valor pronóstico independiente del tamaño. En general, en pacientes con axila negativa, la supervivencia libre de enfermedad se sitúa entre el 90-100% para tumores de grado I y en el 69-88% para los de grado III (A.S.C.O 1996, Daly et al.1999).

3.4.- TIPO HISTOLÓGICO

En general, el subtipo histológico no es un factor pronóstico importante, pero algunos tipos de cánceres de mama aparecen asociados a un riesgo muy bajo de recidiva.

Los tumores ductales infiltrantes y los infiltrantes lobulillares, son las formas mas comunes de cáncer de mama. Las pacientes con tumores ductales infiltrantes, tienen una mayor incidencia de ganglios positivos y peores resultados clínicos que aquellos otros tipos de tumores infiltrantes menos comunes (Gómez et al. 2008, Tiezzi et al. 2009).

El pronóstico de los carcinomas ductales infiltrantes y lobulillares es similar, sin embargo los tipos tubular, medular, papilar, coloide y adeno-quístico, presentan un pronóstico considerablemente mejor. Las variedades mas agresivas son los inflamatorios y los carcinosarcomas.

Los carcinomas intraductales con un mínimo componente agresivo, también tienen un mejor pronóstico que los infiltrantes puros (Burstein et al. 2008).

3.5.- INVASIÓN LINFÁTICA Y VASCULAR

La invasión linfática y vascular (ILV) peritumoral tiene un significado pronóstico y se correlaciona con el riesgo de recaída y la supervivencia (Rosen et al.1989). La recurrencia en pacientes en estadio I con tumores con ILV, es del 38% en comparación con el 22% en aquellas sin ILV.

La invasión linfática y vascular está asociada a un incremento del 15% en el riesgo de recurrencia a los 5 años y este efecto parece ser independiente del tratamiento adyuvante recibido (Neville et al. 1992).

3.6.- EDAD

De las características de las pacientes que se han ido estudiando, la edad es la única validada e incluida en los factores que determinan grupos de riesgo (**Goldhirsch et al. 2005**).

Casi todos los estudios sugieren que el cáncer de mama en las mujeres menores de 35 años tienen peor pronóstico que las de mayor edad (**Han et al. 2004**).

Se han encontrado tendencias altamente significativas, que demuestran que los factores de pronóstico negativo (grado III histológico, necrosis, invasión ganglios linfáticos, reacción celular inflamatoria, componente intraductal) disminuyen con la edad (**Nixon et al 1994**). Incluso se encontró un aumento de afectación de ganglios linfáticos, tamaño tumoral, receptores de estrógenos negativos, fracciones fase S y anomalías en la p53 en pacientes menores de 35 años (**Albain et al. 1994**). Estudios multivariantes realizados concluyeron que la edad joven es un factor predictivo de concurrencia y muerte ajustado con otros factores pronósticos.

Estos datos sugieren que el cáncer de mama en algunas mujeres jóvenes es biológicamente distinto al que se desarrolla en pacientes de mayor edad. La identificación de los genes BRCA-1 y BRCA-2 implicados en ciertas formas de cáncer de mama familiar pueden ayudar a establecer las bases biológicas de la enfermedad con relación a la edad (**Miki et al. 1994, Wooster et al. 1994, Fútrela et al. 1994**).

3.7.- RECEPTORES HORMONALES

El estado de los receptores de esteroides ha sido usado para tomar decisiones terapéuticas en pacientes con tumores avanzados; sin embargo y aunque se han incluido entre las características determinantes de subgrupos pronósticos, la mayoría de los estudios han mostrado que la presencia de receptores de estrógenos (RE) y/o receptores de (RE) progesterona no tiene un impacto pronóstico muy importante. En el ensayo del NSABP B-06, el riesgo de recidiva sistémica a los 5 años fue del 28 y 20% en el grupo RE-negativo y RE-positivo respectivamente y la probabilidad de muerte a los 5 años del 18 y 8% en los mismos subgrupos (**Fisher et al. 1988, Burstein et al. 2008**). Estas mismas conclusiones aparecen reflejadas en las series de Silvestrini y col. y de Arriaga y col. (**Silvestrini et al. 1995, Arriaga et al. 1992**), sin embargo su influencia sobre la supervivencia disminuye en estudios con seguimiento largo (**Hilsenbeck et al. 1998**).

La determinación de receptores de estrógenos y progesterona en las biopsias de mama se ha convertido en una práctica habitual de evaluación en las pacientes con cáncer de mama (**Andersen et al. 1990**). El método bioquímico, utilizado tradicionalmente, era cuantitativo; recientemente se han desarrollado anticuerpos para la determinación inmunohistoquímica, aunque de momento existen pocos estudios que evalúen el valor pronóstico de RE y RP determinados por este método.

El papel fundamental de los receptores hormonales, quizás sea como factores predictivos de respuesta a la terapia hormonal. Mas del 50% de tumores con RH positivos responderán al tratamiento

hormonal, frente al 10% de tumores con RH negativos. Numerosos estudios han confirmado que el período libre de enfermedad y la media de supervivencia son mayores en pacientes con RH positivos, un grupo importante de estudios lo atribuyen al tratamiento hormonal adyuvante y no considera a estos tumores de mejor pronóstico con largo seguimiento (**Berry et al. 2006, Azzato et al. 2009**), sin embargo estudios muy recientes y con un número importante de pacientes como el de Blows (**Bloows et al. 2010**), encontró mejor supervivencia en pacientes con receptores hormonales positivos, independientemente del tratamiento; un estudio con menos pacientes pero muy bien diseñado y minucioso como el de Cheangs (**Cheangs et al. 2009**) encuentra los mismos resultados.

3.8.- HER-2

La familia de receptores de crecimiento epidérmico (EGFR) consta de cuatro miembros: c-erbB-1, c-erbB-2, c-erbB-3, c-erbB-4; de estos c-erbB-2 (HER2-neu) ha sido extensamente estudiado como biomarcador en el cáncer de mama. Así, se ha detectado que alrededor de un 20 a un 30% de los cánceres de mama tienen amplificado y/o sobreexpresado el protooncogen c-erbB-2 (**Burstein et al. 2008**).

Su determinación se realiza, bien por el método inmunohistoquímico (IHC) y/o por FISH (Fluorescent in situ Hybridization) (**Wolf et al. 2007**), con el primero se observa sobreexpresión de la glicoproteína producida por el gen HER2-neu en el tejido tumoral y con la técnica FISH sí existe o no amplificación del gen. Alrededor del 5% de las pacientes tienen sobreexpresión sin amplificación del gen, sin embargo, generalmente ambas condiciones están altamente correlacionadas (**Burstein et al. 2008**).

La positividad del receptor HER-2 parece ser un nuevo factor pronóstico y predictivo, aunque sigue siendo un tema inconcluso (**Finek et al. 2007**).

El valor fundamental de HER-2, sería como factor predictivo de respuesta a tratamientos que tienen a HER-2 como diana, tales como el Trastuzumab (**Picart et al. 2001**) o Lapatinib (**Romond et al. 2005**). Así, por ejemplo, las pacientes HER-2 positivo y RE positivos, pueden mostrar respuesta a terapias endocrinas, pero presentan menor tiempo a la progresión y menor supervivencia que las HER-2 negativo (**Picart et al. 2001**).

Distintos estudios afirman que la amplificación o sobreexpresión de HER-2 es un marcador de mal pronóstico en cáncer de mama, considerándolo un factor pronóstico independiente, junto con la afectación ganglionar y el estado hormonal. También reflejan que el impacto pronóstico de la positividad de HER-2 es menor en las pacientes sin afectación ganglionar que en las que tienen ganglios axilares positivos (**Romond et al. 2005, Ménard et al. 2001**).

Chia et al. en Canadá, estudiaron el impacto pronóstico en una serie de 2.026 pacientes con cáncer de mama sin afectación ganglionar, demostrando que la sobreexpresión o amplificación de HER-2, también se correlaciona con peores resultados en las pacientes con ganglios negativos (**Chia et al. 2008**). Estos resultados se han confirmado en otros estudios como el de Choi (**Choi et al. 2009**).

Gilcrease et al., demostraron que la baja expresión de HER-2 se relaciona también con un pronóstico peor, esto haría pensar en la necesidad de un tratamiento quimioterápico mas agresivo en estas pacientes (Gilcrease et al. 2007)

Bajo riesgo	Riesgo intermedio	Alto riesgo
Ganglios negativos	Ganglios negativos y al <u>menos</u>	
<u>Añadiendo:</u>	<u>uno</u> de los siguientes	
pT ≤ 2 cm.	pT > 2 cm.	Ganglios positivos (1-3) y HER2 +
Grado I	Grado II-III	
RH+	RH-	
Ausencia de ILV	Presencia de ILV	4 o mas ganglios positivos
HER2 -	HER2 +	
Edad ≥ 35 años	Edad < 35 años	
	Ganglios positivos (1-3) y HER2 -	

Tabla 5.- Definición de categorías de riesgo. Tomado de Goldhirsch, 2005

3.9.- OTROS BIOMARCADORES

Existe una serie de factores pronósticos en cáncer de mama que han sido estudiados clínica y biológicamente, pero su importancia no ha sido validada en ensayos consistentes, como p53, fracción de células tumorales en fase S, la ploicidad, del DNA tumoral, marcadores de angiogénesis, el receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGFr), el factor a de crecimiento (TGFa), el bcl-2, el pS2, y la catepsina D12 (Conzen et al. 2008).

4.- SUBTIPOS MOLECULARES DE CANCER DE MAMA

El cáncer de mama es una enfermedad heterogénea tanto desde un punto de vista patológico como clínico. Como hemos comentado anteriormente en el capítulo de factores pronósticos, se ha intentado clasificar a las pacientes con cáncer de mama, en diferentes grupos pronósticos, que permitieran predecir las posibilidades de recaídas y así prescribir un tratamiento adyuvante adecuado (Contesso et al. 1990).

Los factores pronósticos que están contrastados y en los que se basan los diferentes guías para recomendar tratamiento adyuvante son: tamaño tumoral, afectación o no de ganglios regionales, así como su número y situación, grado histológico y estado de los receptores hormonales. También se han tenido en cuenta, el tipo de cirugía, la edad de la paciente, así como el estado menstrual (Fitzgibbons et al. 2000). Los receptores hormonales, además de factor pronóstico son factores predictivos de respuesta (Saccani et al. 1989). Recientemente la amplificación del gen HER2 se ha incorporado como factor pronóstico y predictivo de respuesta a la utilización del anticuerpo monoclonal Trastuzumab, y se ha introducido en la práctica clínica (Slamón et al. 2001, Piccart-Gebhart et al. 2005).

El conocimiento de la biología tumoral y su desarrollo en el último cuarto del siglo XX y esta primera década del siglo XXI, ha puesto de manifiesto que el cáncer es una enfermedad poligénica, por alteración de los diferentes genes que controlan la proliferación, la diferenciación y la muerte celular. Sin embargo las alteraciones genéticas “per se”, no permiten saber exactamente como se comporta el tumor, si no que es clave la expresión del gen, que no solo depende de su situación molecular, sino también del microambiente y de los sistemas de transmisión de información (Blows et al. 2010, Sotiriou et al. 2009, Sorlie et al. 2001, Perou et al. 2000).

La heterogeneidad celular y molecular del cáncer de mama y el gran número de genes implicados para controlar el crecimiento celular, la muerte y la diferenciación, ponen de manifiesto la necesidad de estudiar múltiples alteraciones genéticas en conjunto, son los llamados **perfiles de expresión génica**. Esto se ha conseguido, mediante microarrays de cDNA o sondas de oligonucleótidos que permiten la medición simultánea de la actividad (expresión) de miles de genes en una célula de cáncer de mama (Sorlie et al. 2001, Perou et al. 2000).

4.1.- PERFILES MOLECULARES DEL CÁNCER DE MAMA

Sin entrar en aspectos técnicos los perfiles arrays de expresión génica permiten medir el nivel de expresión de un grupo de genes de forma semicuantitativa, mediante la determinación del nivel de ARN mensajero (ARNm), que se compara con el ARNm de un mismo gen en una muestra de referencia. En general, un tejido tumoral es procesado (la mayoría de los estudios de expresión han utilizado tejido congelado) y su ARN o ADNc se marca con una sonda fluorescente y se aplica a una matriz, donde se hibrida y se une a las sondas genéticas específicas de esa matriz. Una vez se identifica un perfil, un

número mas limitado de genes (generalmente de 10 a 100) se pueden utilizar para clasificar un tumor (**Abd El- Rehim et al. 2004, Perreard et al. 2006**).

Hay dos tipos principales de perfiles moleculares de uso común en el laboratorio: análisis no supervisado y análisis controlado. El análisis no supervisado (o agrupación) permite el examen de los patrones de expresión génica sin hacer caso de variables clínicas y refleja las diferencias biológicas. El análisis supervisado es aquel en el que los conjuntos de genes están diseñados para diferenciar los tumores por un criterio de valoración clínica definida (**Sorlie et al. 2001, Perou et al. 2000**).

En el año 2000, Claude Perou y su equipo (**Perou et al. 2000**) estudiaron si los diferentes fenotipos de cáncer de mama podían correlacionarse con expresión de genes emparejados que pudieran individualizarse usando cDNA microarrays.

Este autor identificó cuatro subtipos de cáncer de mama sobre la base de perfiles de expresión génica, en 39 tumores de mama invasivo y tres especímenes de mama (**Perou et al. 2000**).

Un subgrupo de especímenes de tejido mamario se agrupaban por tener genes relacionados con los receptores hormonales y además expresaban genes relacionados con las células lumbales del tejido mamario normal, a estos los denomino **ER+/Luminal-Like**. Los otros tres subtipos de agrupaciones genéticas, eran independientes de los receptores hormonales. De forma jerárquica los clasifíco como receptores hormonales negativos, pero dentro de ellos, encontró tres diferentes patrones, según tuvieran expresión del gen HER2, (**subgrupo HER2 enriquecido**), no lo tuviera y expresara genes de proliferación (**subgrupo Basal-Like**) o un grupo de genes relacionados con las células basales, pero sin las dos características previamente mencionadas, sin genes en relación a HER2 ni genes de proliferación, a los que denominó **Normal-Like**.

Un posterior análisis de los patrones de expresión génica en 78 cánceres de mama, tres fibroadenomas y cuatro tejidos mamaros normales, sugiere que el subtipo luminal-like podría estar dividido en dos subgrupos: **Luminal A y Luminal B**, pues dentro de él hay un subgrupo de tumores que se relacionan con la expresión de receptores hormonales y que a la vez tienen asociados expresión de genes de proliferación e incluso relacionados con HER2, a esta agrupación la denomino **Luminal B**, al resto los denomino **Luminal A**. Por otra parte se consideró que el subgrupo **Normal Like**, pudiera ser algo artefactado o ficticio y que podía ser tejido mamario normal, por tanto se considero que los subtipos intrínsecos de cáncer de mama serian 4: dos de ellos agrupados en torno a los receptores hormonales: **Luminal A y Luminal B** y otros dos con no expresión o expresión muy baja de receptores hormonales, que se subdividían dependiendo se agruparan en torno a genes relacionados con HER2 o no, eran respectivamente los subgrupos **HER2 enriquecido y Basal-Like** (**Sorlie et al. 2001**).

En un análisis posterior se observo que estos subtipos moleculares reflejaban diferencias en supervivencia global y supervivencia libre de recidiva, siendo más favorables para las pacientes con tumores subtipo **Luminal A** y menos favorables para las pacientes con subtipo **HER2 enriquecido** y las que tenían el subtipo **Basal-Like**. Las pacientes con subtipo **Luminal B**, tenían un pronóstico intermedio entre las Luminal A y los otros dos subtipos (**Sorlie et al. 2003**).

4.2.- CORRELACIONES ENTRE LOS SUBTIPOS INTRÍNSECOS Y LOS SUBTIPOS POR INMUNOHISTOQUIMICA (IHC)

La clasificación de los cánceres de mama en subgrupos, sobre la base de patrones de expresión génica en el tejido tumoral se considero a partir de estos trabajos (Perou et al. 2000, Sorlie et al. 2001, Sorlie et al. 2003) como el patrón oro, pero el uso generalizado de perfiles de expresión genética en la clínica habitual es restringida, tanto por el costo económico, como por las dificultades técnicas encontradas en la realización de perfiles de expresión genética de alto rendimiento utilizando el material incluido en parafina. Por otra parte, actualmente los subtipos definidos en base a un perfil de expresión se determinaron a través del estudio de un número relativamente pequeño de estos subgrupos de tumores y puede no ser definitivo. En consecuencia, existe interés en el uso de marcadores de inmunohistoquímica (IHC) para clasificar los tumores en subtipos que tengan las mismas características que los subtipos identificados mediante estudios de expresión génica mediante arrays (Callagy et al. 2003).

En principio, los subtipos luminales se podrían identificar por inmunohistoquímica, por la expresión de receptores de estrógenos y/o progesterona. Los tumores Luminal A según la definición de la expresión génica, en general, tienen una mayor expresión de genes relacionados con el RE y menor expresión de genes implicados en proliferación de tumores que los Luminal B (Oh et al. 2006). Sin embargo, no hay marcadores establecidos de IHC para subdividir los subtipos luminal en las mismas categorías. Recientemente, se ha sugerido que el subtipo Luminal B es equivalente a los que expresan HER2 o bien un nivel determinado de un marcador de proliferación denominado Ki67 (Chang et al. 2009).

Los tumores que no expresen por IHC receptores hormonales, son los no luminales y se suelen subdividir en 2 grupos: Los subtipos **HER2- enriquecido** que son el equivalente de la sobreexpresión de ErbB2 y relativamente fáciles de identificar por IHC o por hibridación fluorescente "in situ" y los tumores que no sobreexpresan HER2, a este subgrupo se le ha llamado fenotipo **triple negativo (RE-, RP-, HER2)**; estos tumores son considerados como equivalentes a los del **subtipo basal**. No obstante, no todos los tumores triple negativo, expresan citoqueratinas basales (CK), que serian las que de alguna forma confirmaran su superposición con el subtipo Basal Like de Perou. La expresión de una de las CK5/6 o de receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGFR) se ha demostrado que puede identificar con precisión los tumores basales clasificados utilizando la expresión genética (Nielsen et al. 2004, Carey et al. 2006).

En estos momentos para intentar clasificar mediante IHC los tumores y que se correspondan con los subtipos intrínsecos de Perou, se utiliza habitualmente la expresión de receptores hormonales (RE y RP), amplificación de HER2, grado histológico y en algunos estudios citoqueratinas 5 y 6, Ki 67 y EGFR, existiendo cierta confusión sobre todo con los subtipos Luminal B y la subdivisión o no de los Basal Like.

Vamos a comentar los diferentes subtipos intrínsecos y su traducción por métodos IHC.

El nombre de "luminal" deriva de la similitud en la expresión entre estos tumores y el epitelio luminal de la mama, que suelen expresar citoqueratinas luminales 8 y 18. Estos son los subtipos más comunes, constituyen la mayoría de cánceres de mama con receptores hormonales positivos y se caracterizan por la expresión de receptores de estrógenos (RE), receptores de progesterona (RP) y otros genes asociados con la activación del RE y RP (Sorlie et al. 2003, Sotiriou et al. 2003).

4.2.1.- Subtipo Luminal A

Representan mas del 40 por ciento de todos los cánceres de mama, aunque depende mucho del tipo de estudio, en general tienen una alta expresión de genes relacionados con receptores hormonales (RH), baja expresión de la agrupación de genes HER2 y baja expresión de genes relacionados con la proliferación (Fan et al. 2006, Huz et al. 2006). Estos tumores luminales suelen tener mejor pronóstico que el resto de los otros subtipos de cáncer de mama (Sorlie et al. 2001, Sorlie et al 2003, Sotiriou et al. 2003, Loi et al. 2007, Foulkes et al. 2004).

Desde el punto de vista de correlación IHC, son tumores con receptores de estrógenos altamente positivos, HER2 negativo y bajo grado histológico. Recientemente se ha introducido el Ki 67 como expresión de proliferación (Sotiriou et al. 2009). Es posible que este tipo de marcadores pueda definir claramente los Luminal A, pero el problema es donde se da el corte de alta expresión de receptores de estrógenos, si solo se utilizan estos o también los de progesterona, así como donde dividimos los tumores con alto o bajo grado histológico y que niveles consideramos de Ki 67.

4.2.2.- Subtipo Luminal B

Son menos comunes (aproximadamente el 20%), tienen relativamente más bajos, aunque todavía están presentes, la expresión de genes relacionados con RE y RP, expresión variable de la agrupación de HER2 y una mayor expresión de la agrupación de genes de la proliferación. Los tumores Luminal B, tienen un pronóstico peor que los tumores luminal A (Foulkes et al. 2004).

Desde el punto de vista IHC, es el que peor se define, en principio tendrían receptores hormonales positivos pero con bajos niveles de receptores de estrógenos y progesterona, alto grado histológico, amplificación de HER2 y/o Ki 67 alto, según Sotiriou (Sotiriou et al. 2009) por encima de 13,25 %.

El problema se plantea si con esta clasificación estamos reflejando claramente los subtipos moleculares de Perou o estamos haciendo otra clasificación.

Según la clasificación jerárquica, los tumores luminales son los que expresan genes relacionados con los receptores hormonales y de células luminales, por tanto cualquier tumor que exprese por IHC receptores hormonales son tumores LUMINALES. El siguiente paso es que dentro de los luminales, en el siguiente estudio del grupo de Perou (Sorlie et al. 2001), observaron un grupo de tumores, que era el mas numeroso, que se asociaba a genes de baja actividad proliferativa y otro grupo

que se asociaba a genes de alta capacidad proliferativa, el problema es como los distinguimos desde el punto de vista IHC y que posiblemente no tengan un límite preciso.

En los primeros estudios de Sorlie (**Sorlie et al. 2003**) en el subgrupo luminal de alta proliferación, se asociaban genes relacionados con amplificación de HER2, lo cual puede tener una traducción por IHC y por tanto, ellos admitieron como luminal B a los que tenían RE y/o progesterona positivos y HER2 amplificado; pero estos muchas veces no se asociaban con alto grado ni con expresión baja de receptores, por lo cual otros autores han preferido clasificarlos dependiendo de la expresión de Ki 67 (**Sotiriou et al. 2009**) y otros como Bhargava (**Bhargava et al. 2008**, **Bhargava et al. 2010**) excluyen a los HER2 amplificados y clasifican por niveles de receptores hormonales, Luminal A los que tienen altos niveles de receptores hormonales y Luminal B los otros y además hacen otro subgrupo con los tumores luminales que expresan HER2. En una carta al editor, Tamami (**Tamimi et al. 2008**) rebate esta clasificación de Bhargava (**Bhargava et al. 2008**), refiriendo que ellos en su estudio y otros autores como Carey (**Carey et al. 2006**) y Yang (**Yang et al. 2007**) han demostrado que considerando a los tumores Luminal B con las características IHC antes referidas (RE y/o RP positivos y HER2 amplificado), este subtipo se asocia a las características clínicas de los subtipos clasificados por expresión de genes como Luminal B por microarrays (**Sorlie et al. 2003**).

Por tanto en ausencia de mas datos, podemos considerar a los Luminal B, según los datos de IHC, como tumores con expresión de RE y/o RP y HER2 positivo, ya que su perfil clínico es el que mas se ajusta a los subtipos de expresión de genes intrínseca de Perou.

4.2.3.- Subtipo HER2 enriquecido

Este subtipo, representa alrededor del 10 al 15 por ciento de los cánceres de mama y se caracteriza por una alta expresión del HER2 y agrupaciones de genes de proliferación y baja expresión de la agrupación de genes luminales (receptores hormonales y citoqueratinas de células luminales). Por esta razón, estos tumores suelen ser negativos para RE y RP, y positivos para HER2. Es importante señalar que este subtipo comprende sólo la mitad de los cánceres de mama HER2+. La otra mitad que tiene alta expresión de HER2, se agrupa con genes luminales y son los denominados por algunos autores Luminal B (**Carey et al. 2006**, **Yang et al. 2007**). Antes de la terapia con anticuerpos contra HER2 (trastuzumab), este subtipo tenía un mal pronóstico, hoy ha cambiado gracias a la existencia de un tratamiento específico (**Foulkes et al. 2004**). La correlación con IHC, está relativamente bien establecida, pues son tumores con expresión negativa de receptores hormonales y amplificación de HER2. Es posible que subtipos HER2 amplificado con baja expresión de receptores hormonales clasificados como Luminal B, pudieran parecerse desde el punto de vista genómico mas a este subgrupo, pero desde un punto de vista tanto clínico como IHC es un grupo homogéneo y que, en un altísimo porcentaje se corresponde con el subtipo molecular de Perou.

4.2.4.- Subtipo Basal-Like

El subtipo Basal-Like, llamado así por una cierta similitud en la expresión génica a la de las células epiteliales basales o mioepiteliales, constituye alrededor del 15 al 20 por ciento de los cánceres de mama. Se caracteriza por la baja expresión de los grupos de genes luminales y HER2. Por esta razón, estos tumores desde el punto de vista de IHC son RE-, RP- y HER2-, esto ha hecho que se denominen "triple negativo". Sin embargo, aunque la mayoría de los tumores triple negativo se corresponden con el subtipo Basal-Like de Perou, y la mayoría de los tumores basales son triple negativo, existen diferencias significativas entre ellos (Blows et al. 2010).

Estos tumores tienen una alta expresión de genes de proliferación, son casi siempre de alto grado y suelen presentar un alto grado de inestabilidad genómica. También tienen una alta expresión del receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGFR), así como un grupo único de genes llamados grupo basal, que tienen citoqueratinas 5, 6, 14 y 17, típicas de epitelios basales o mioepiteliales (Sorlei et al. 2003, Millikan et al. 2008).

Por tanto hay autores que dentro de los Basal Like, consideran 2 grupos, los que son triple negativo y con positividad para EGFR y CK 5 y 6, que serían los auténticos Basal Like y los que solo son triple negativo (Blows et al. 2010). A día de hoy, en ausencia de otros datos, a los tumores triple negativo se les considera como Basal-Like.

El cáncer de mama Basal-Like tiene rasgos únicos. Entre los más destacados, está la fuerte asociación con los cánceres de mujeres con BRCA1 mutado en la línea germinal, en los cuales más del 80 por ciento son Basal-Like (Sorlei et al. 2003, Millikan et al. 2008).

Aun así, la mayoría de los cánceres de mama Basal-Like son esporádicos, y el gen BRCA1 y su proteína están intactos en casi todos estos tumores.

4.3.- SUBTIPOS INTRÍNSECOS Y CORRELACIONES CLÍNICAS

Vamos a ir comentando a lo largo de este apartado, los diferentes parámetros clínicos y su relación con los subtipos de Perou, según la equivalencia por IHC, para ello seguiremos los 4 tipos utilizando los criterios de Carey (Carey et al. 2006), **Luminal A (RE y/o RP positivos y HER2-)**, **Luminal B (RE y/o RP positivos y HER2+)**, **HER2 amplificado (RE y RP negativos y HER2+)** y **Basal Like (RE, RP y HER2 negativos)**. Como ya hemos comentado previamente hay muchos estudios que utilizan otros criterios IHC para clasificarlos e incluso hay algunos que los subdividen en otros grupos, bien reagrupando alguno de los anteriores, bien dividiéndolos. Por tanto muchos datos no son estrictamente comparables.

4.3.1.-Frecuencia de subtipos intrínsecos

La frecuencia de los diferentes subtipos depende del tipo de población estudiada, fundamentalmente la etnia o la selección de pacientes dependiendo del tratamiento.

El estudio mas numeroso, con mas de 10,000 pacientes es el de **Blows (Blows et al. 2010)**, en población de América del Norte (EEUU y Canadá). La proporción de subtipos luminales es del 78%, de ellos son Luminal A el 92% y Luminal B solo el 8%; los subtipos no luminales representan el 22%, de los cuales el 6% son HER2 positivo y el 16% triple negativo. El grupo de Cheang (**Cheang et al. 2009**), en un total de 4,046 pacientes, clasificaron como luminales a 2.847 pacientes y de ellos, utilizando la positividad de HER2 y el porcentaje de Ki 67 para clasificarlos (cuando era superior a 13,25%, se consideraba de alto grado y se clasificaba como Luminal B), el 59% fueron Luminal A y el 33% se clasificaron como Luminal B y añadieron un tercer grupo de luminales cuando tenían HER2 positivo que representaban el 18%.

El estudio de Carey (**Carey et al. 2006**) en una población de Estados Unidos, con una alta proporción de afroamericanas y siguiendo los criterios clásicos para dividir por IHC los diferentes subtipos, encontró que eran Basal Like el 20% de las pacientes, pero esto cambiaba cuando se analizaba solo población afroamericana; que cuando eran premenopausicas, este subtipo llegaba a representar el 39% de la muestra, mientras que en afroamericanas postmenopausicas la proporción era del 14%, muy parecido al 16% del total de pacientes caucasianas. En un análisis posterior de este mismo estudio sobre un total de 1,149 pacientes, el grupo de afroamericanas muestra un 48% de pacientes con Luminal A, 8% de Luminal B, 22 % de Basal Like y 7% de HER2 enriquecido, que difieren de las pacientes de raza blanca que tienen 64% de Luminal A, 11% de Luminal B, 11% de Basal Like y 5% de HER2 enriquecido (**O'Brien et al. 2010**). El grupo de Hugh (**Hugh et al. 2009**) en el estudio BCIRG 001, encontró el subtipo triple negativo en el 14,5% de la población seleccionada, HER2 amplificado en el 8,5%, Luminal B en el 61,1% y Luminal A solo en el 15%; estas diferencias con el resto de los estudios se deben probablemente a que en este, incluyeron pacientes de mal pronóstico, con lo cual disminuye la proporción de pacientes con subtipo Luminal A.

En población Europea, el estudio de Bhargava (**Bhargava et al. 2010**) subdivide los luminales A y B, dependiendo del nivel de RH y cada uno de ellos en dos subgrupos dependiendo de que sean HER2+ o negativo y encuentran las siguientes frecuencias, Luminal A (HER2-) 31%, Luminal B (HER2-) 20%, Luminal A (HER2+) 4%, Luminal B (HER2+) 7%, los HER2 enriquecidos 16 % y los triple negativo el 22%.

En un estudio reciente en población caucasiana de Millar (**Millar et al. 2009**) las Luminal A representan el 79,1 %, Luminal B el 4,6%, Basal Like 10,4% y HER2 enriquecido 2,6 %.

El estudio de Ithemelaudu (**Ithemelaudu et al. 2007**) en población afroamericana, con criterios IHC clásicos, encontró un 55% de pacientes con tumores Luminal A, 11% de ellas eran Luminal B, Basal Like fueron el 21,2% y HER2 enriquecido el 11,6 %.

Hay dos estudios españoles publicados, que utilizan criterios inmunohistoquímicos clásicos y de población no seleccionada, que pueden ser muy interesantes para comparar posteriormente.

En el estudio de Bosch (**Bosch et al. 2009**) con 816 pacientes, son luminales el 81,2% de ellos Luminal A el 88,9% y Luminal B el 11,2%; HER2 amplificado el 4,8% y son triple negativo el 14% de las pacientes. Del Casar (**Del Casar et al. 2008**) en un estudio con 787 pacientes, estudia los subtipos por IHC

con las siguientes variaciones, no subdivide a las pacientes con tumores luminales y a las que tienen tumores Basal Like las subdivide dependiendo si presentan positividad de EGFR. Así el 55,8% de los tumores eran Luminales, el 10,7% son Basal Like con EGFR-, el 11,9% eran Basal Like con EGFR+ y el 21,6% HER2 positivo.

Es evidente que de los subtipos moleculares identificados por inmunohistoquímica, los luminales son los mas numerosos. En población no seleccionada superan habitualmente el 60%, los triple negativo rondan entre el 10 y el 20% y los HER2 positivo son alrededor del 10%, teniendo en cuenta que casi otro tanto de pacientes con HER2 positivo están clasificadas en los grupos luminales. Existen grandes diferencias que es posible se justifiquen por ser todos estudios retrospectivos, seleccionados con criterios diferentes, con las determinaciones en diferentes laboratorios y con diferentes puntos de corte.

4.3.2.- Subtipos intrínsecos y edad y otros datos demográficos

Los estudios de población caucasiana sin seleccionar muestran diferencias de edad entre los subgrupos, siendo habitualmente mas jóvenes las pacientes con tumores Basal Like y tumores HER2 enriquecido (Bosch et al. 2009, Del Casar et al. 2008, Hugh et al. 2009). En otro estudio (Bhargava et al. 2010) de población caucasiana, encuentran datos parecidos pero expresados de forma inversa, las pacientes luminal A eran 10 años mayores que el resto.

En dos estudios con población afroamericana se encuentran resultados diferentes, así en el estudio de Carey en población de Carolina del Norte, las pacientes con tumores triple negativo son mucho mas jóvenes que el resto de los grupos (Carey et al. 2006), sin embargo Ihemelandu y cols, en este grupo de población no encuentra esas diferencias (Ihemelaudu et al. 2007).

Otra asociación notable es entre el subtipo Basal-Like y la raza. Los estudios con población multiétnica, encuentran que el subtipo Basal-Like es mas frecuente en mujeres pre-menopáusicas y afro-americanas (Parker et al. 2009, Carey et al. 2006, Millikan et al. 2008, O'Brien et al. 2010) Por esta razón, es posible que esta prevalencia pueda contribuir, en parte, a los peores resultados en supervivencia que experimentan las mujeres afroamericanas con cáncer de mama (Foulkes et al. 2004).

4.3.3.- Subtipos intrínsecos y estado menstrual

Aunque no todos los estudios lo refieren, en general, los subtipos HER2 enriquecido y Basal-Like tienen una mayor proporción de pacientes premenopausicas, incrementándose especialmente cuando se estudia solo población afroamericana, sobre todo los subtipos Basal-Like (Bosch et al. 2009, Del Casar et al. 2008, Hugh et al. 2009, Carey et al. 2006, Ihemelaudu et al. 2007).

4.3.4.- Subtipos intrínsecos y anatomía patológica

Los tipos anatomopatológicos son referidos en los diferentes estudios de forma global (Rouzier et al. 2005, Hugh et al. 2009). En algún trabajo que se ha estudiado por subgrupos no se han encontrado diferencias significativas (Liedtke et al. 2008).

4.3.5.- Subtipos intrínsecos y tamaño del tumor

Los diferentes estudios (Dent et al. 2007, Bhargava et al. 2010, Bosch et al. 2009, Liedtke et al. 2008, Blows et al. 2010) que comparan el tamaño de la T entre los diferentes subtipos presentan varios problemas, por un lado cada uno de ellos utiliza diferentes criterios para agruparlos por subtipos y por otro lado algunos consideran solo T1 frente al resto y en otros los distintos tipos de T, por tanto es difícil sacar conclusiones definitivas.

En un estudio liderado por Dent (Dent et al. 2007) se compara el tamaño del tumor entre las pacientes con subtipo triple negativo y el resto. Encuentra que las pacientes con triple negativo tienen menos tumores T1 que los otros subtipos, siendo estadísticamente significativo; sin embargo en el estudio de Liedtke (Liedtke et al. 2008), con mas de 1000 pacientes no encuentra diferencias entre los dos mismos grupos. Bosch (Bosch et al. 2009) que estudia todos los grupos definidos de forma clásica, encuentra que las pacientes con tumores Luminal A tienen mas T1 y que el subtipo triple negativo es el que tiene menos. Sin embargo en el estudio de Bhargava (Bhargava et al. 2010) no hay diferencias, pero hay que tener en cuenta que estos autores subdividen las pacientes en 6 grupos, pues dentro de las luminal hay 4 subtipos, dependiendo del nivel de receptores y de que tengan o no HER2 amplificado, por tanto el tamaño de la muestra por grupos es pequeño. El estudio con mayor numero de pacientes como es el de Blows (Blows et al. 2010) con mas de 10.000 casos, encuentra que en los tumores Luminal A, un 61% eran menores de 2 cm., mientras que en los tumores Luminal B ese grupo representaba el 47%, en el subtipo HER2 amplificado significaban el 43% y en los triple negativo el 46%.

Por tanto, en principio, parece que en los tumores con el subtipo triple negativo hay una tendencia general a tumores de mayor tamaño cuando se compara con el resto de grupos de forma global; cuando se estudian teniendo en cuenta los 4 subtipos, la diferencia la marcan los tumores con subtipo Luminal A, que son mas pequeños, mientras que los otros tres subtipos tienen tumores de mayor tamaño.

4.3.6.- Subtipos intrínsecos y afectación ganglionar

En este apartado nos encontramos con la misma problemática que en los anteriores, pues se subdivide la afectación ganglionar de forma diferente en los distintos estudios, así mismo los subtipos de Perou también están agrupados de forma distinta (Dent et al. 2007, Bhargava et al. 2010, Hugh et al. 2009, Bosch et al. 2009, Liedtke et al. 2008, Blows et al. 2010).

Comenzado por el estudio de Blows, (Blows et al. 2010) que como dijimos tiene mas de 10,000 pacientes y las dividen en los grupos clásicos, a no ser el triple negativo que lo subdividen dependiendo que tengan o no negatividad en los 5 marcadores; en la referencia a los ganglios solo tiene en cuenta si están afectos por el tumor o no y encuentran que, los subtipos Luminal A tienen mas pacientes con ganglios negativos, pero curiosamente los dos grupos del subtipo triple negativo también tienen mas pacientes con axila libre y son los tumores con HER2 positivo (Luminal B y HER2 enriquecido) los que tienen una relación inversa. El grupo de Hugh (Hugh et al. 2009), solo estudia pacientes con ganglios

positivos, los subdivide por el TNM y no encuentra diferencias significativas entre los diferentes subtipos moleculares.

Los datos del grupo de Bosch (**Bosch et al. 2009**) son distintos, encuentra mas pacientes con ganglios positivos en el subtipo Luminal B y no encuentra diferencias con el resto.

Liedtke (**Liedtke et al. 2008**) y Dent (**Dent et al. 2007**), comparan los subtipos triple negativo contra el resto de subtipos y tienen resultados diferentes, mientras que en el estudio de Dent (**Dent et al. 2007**) se observa que tumores triple negativo tienen mas ganglios positivos que el resto, en el estudio de Liedtke (**Liedtke et al. 2008**) al subdividirlos en N0, N1, N 2 y N3, no encuentra diferencias.

En este apartado podemos concluir que no hay unanimidad, aunque en todos los trabajos donde se estudian de forma individual los 4 subtipos, los Luminal A tienen menos afectación ganglionar, pero a veces junto con los triple negativo o con los otros Luminales. Siguiendo al estudio de mayor número de pacientes sin seleccionar (**Blows et al. 2010**), las pacientes con HER2 amplificado, son las que tienen mas afectación ganglionar, bien en su grupo o encuadradas dentro de Luminal B. En el resto de los estudios el denominador común es que los Luminal A tienen menos afectación ganglionar.

4.3.7.- Subtipos intrínsecos y grado histológico

Tenemos las mismas dificultades para analizar la relación entre los diferentes subtipos y el grado histológico que en los apartados anteriores.

Tomando como patrón el estudio de Blows (**Bosch et al. 2009**), observan que los subtipos Luminal A, tienen un 29% de tumores con grado III, los Luminal B un 56%, los HER2 amplificado un 73%, los Basal-Like llegan al 85% y dentro de ellos los triple negativo al 69%. Bhargava (**Bhargava et al. 2010**), clasificándolos en 6 subtipos, ya que considera dentro de los luminales, cuatro grupos dependiendo tengan o no HER2 amplificado, encuentra que el subtipo con mas tumores indiferenciados, con diferencias muy importantes son los triple negativo, seguido del subtipo Luminal B con HER2 amplificado y del subtipo HER2 enriquecido.

Los dos estudios que dividen los subtipos solo entre triple negativo y no triple negativo (**Liedtke et al. 2008, Dent et al. 2007**), encuentran diferencias importantes entre ellos, teniendo mas tumores indiferenciados los triple negativo.

En este apartado, parece que hay unanimidad al considerar que los triple negativo tienen tumores más indiferenciados seguidos de los subtipos que contengan HER2 amplificado.

4.3.8.- Subtipos intrínsecos y supervivencia libre de enfermedad

El interés en clasificar a los canceres de mama por subtipos moleculares, fue por la posible correspondencia de estos con la supervivencia libre de recurrencia y por ende con la supervivencia global, los primeros datos en este sentido fueron publicados por Sorlie (**Sorlie et al. 2001**) sobre una pequeña muestra de 45 pacientes con cáncer de mama, la mejor supervivencia fue para el subtipo

Luminal A, posteriormente, ampliaron el estudio, sobre un total de 115 pacientes con resultados similares (Sorlie et al. 2003).

A partir de entonces en las diferentes series (Fan et al. 2006, Cheang et al. 2009, Liedtke et al. 2008, O'Brien et al. 2010, Millar et al. 2009, Voduc et al. 2010) se ha estudiado la capacidad de la clasificación de subtipos moleculares para ser un factor pronóstico independiente. En este apartado nos encontramos con los mismos problemas que en los anteriores, ya que los estudios son retrospectivos y dividen los diferentes subtipos moleculares con criterios distintos, los tratamientos son dispares y el tipo de pacientes estudiadas también.

Liedtke en 2008 (Liedtke et al. 2008) sobre un total de 1.118 pacientes estudian la recurrencia teniendo en cuenta los subtipos moleculares, pero divididos solo en triple negativo y resto de subtipos. Observaron que las pacientes con tumores triple negativo estaban libres de progresión el 63%, mientras que en los otros subtipos permanecían libres de eventos el 73%, pero no solo recaían mas las pacientes con triple negativo, si no que en este estudio lo hacen antes, estando el pico de recaída alrededor de 2-3 años.

Fan, en un estudio sobre 250 pacientes (Fan et al. 2006) observan un mayor intervalo libre de enfermedad en las pacientes Luminal A y no observan diferencias entre el resto de los grupos.

Cheang (Cheang et al. 2009) sobre un total de 4.046 pacientes, selecciona 943 con ganglios negativos y RE positivos, que no recibieron tratamiento sistémico y compara las pacientes con tumores Luminal A vs pacientes con tumores Luminal B y luminales con HER2 positivo, encontrando diferencias significativas en favor de las pacientes con subtipo Luminal A, el hecho de que fuera un grupo sin tratamiento es un dato muy importante, pues hay autores (Berry et al. 2006) que preconizan que el mejor intervalo libre es por el tratamiento con hormonoterapia en las pacientes con RE positivos, pero a la larga la supervivencia se iguala. También analizan 196 pacientes de las mismas características (ganglios no afectos y receptores hormonales positivos) con tratamiento sistémico, el resultado es idéntico y otro tanto ocurrió cuando analizaron a 627 pacientes con ganglios afectos y tratamiento sistémico. Por tanto para estos autores, el subtipo Luminal A tiene mejor pronóstico de forma intrínseca, sin tener en cuenta el tratamiento ni la extensión.

Bosch (Bosch et al. 2009), en 816 pacientes sin seleccionar, considerando los cuatro grupos clásicos, observa que las pacientes con subtipo Luminal A, tienen menos recaídas que los otros 3 subtipos, pero solo muestran diferencias estadísticamente significativas respecto a las pacientes con subtipo Basal-Like.

Por otra parte Hugh (Hugh et al. 2009), considerando los cuatro grupos clásicos, pero en pacientes previamente seleccionadas, de mal pronóstico, observa mucha mejor supervivencia libre de enfermedad a los 3 años en el grupo Luminal A (91%), seguido del Luminal B (82%) y después los otros dos subtipos (triple negativo y HER2 amplificado) que tienen una supervivencia libre de enfermedad prácticamente igual (67% y 68% respectivamente).

Recientemente, Millar presenta un estudio (Millar et al. 2009) con un seguimiento medio de 84 meses, sobre un total de 498 pacientes y observa que recaen mas y antes las pacientes con subtipos Basal Like y HER2 enriquecido, seguidos de las que tienen subtipo Luminal B y los que menos los subtipos Luminal A, tanto en recaída local como a distancia.

O'Brien (O'Brien et al. 2010) en un estudio tanto en población afroamericana como blanca en EU, observa que las recaídas son mas frecuentes en el subtipo Basal Like.

El grupo de Voduc (Voduc et al. 2010), estudian mediante IHC (pero con EGFR, CK 5 y 6 y Ki 67), los subtipos intrínsecos y las recurrencias en 2985 pacientes, durante 12 años y observan menos recurrencias locales y regionales en las pacientes con Luminal A

A la luz de los diferentes trabajos, las pacientes con tumores triple negativo son las que recaen en mayor número y de forma mas temprana, existían algunas dudas en algún estudio si a la larga se igualarían los diferentes subtipos, pero los estudios recientes con largos seguimientos y una subdivisión mas precisa de los subtipos (O'Brien et al. 2010, Voduc et al 2010) confirman que las pacientes con Luminal A son las que menos recaen y con alguna excepción (solo en el estudio de Parker recaen mas que las Basal Like y las HER2), a continuación las Luminal B, seguidas de las pacientes con subtipo HER2 enriquecido y Basal Like, que son similares en la mayoría de las series.

4.3.9.- Subtipos intrínsecos y tipo de recaídas

Hoy día se sabe que los tumores metastatizan en diferentes sitios dependiendo de tipo de tumor, del huésped, de su capacidad de adhesión, capacidad de extravasación, microambiente, etc.; en suma dependiendo de una serie de genes o grupos de genes y de su capacidad de activar distintas vías moleculares que hacen que los tumores de mama puedan tener mas capacidad para afectar el pulmón, el hueso u otros órganos (Smid et al. 2006, Minn et al. 2005).

En este sentido es lógico pensar que los diferentes subtipos moleculares de cáncer de mama tengan patrones de recaída diferentes, (Dent et al. 2007, Smid et al. 2006, Millar et al.2009, Voduc et al. 2010).

Dent (Del Casar et al. 2008) en un estudio con 1.601 pacientes, dividieron a las pacientes con tumores triple negativo (por IHC) y no triple negativo, representando las primeras el 11,2% del total; estudiaron las recaídas a los 5 años, observando que las pacientes con tumores triple negativo, tenían 2,6 veces mas recaídas a distancia que los otros subgrupos y 3,2 veces de posibilidad de muerte que los otros tipos. También constataron que las pacientes con tumores triple negativo, prácticamente no recaían a partir de los 8 años, mientras que los otros subgrupos seguían recayendo y las diferencias de mortalidad se iban igualando aunque no el tipo de recaída, que seguían siendo fundamentalmente viscerales.

Haffy, (Haffy et al. 2006) en un grupo mas pequeño de pacientes (482) también las subdivide en mujeres con tumores triple negativo y resto de grupos, comprobando un mayor número de recaídas viscerales en las pacientes con tumores triple negativo, mientras que no había diferencias en el control

local. Estos resultados son diferentes, que los referidos recientemente por Wo (**Wo et al. 2010**), que encuentran mayor número de recaídas axilares en las pacientes con tumores triple negativo y HER2 amplificado.

Smid (**Smid et al. 2006**), estudian 344 pacientes con cáncer de mama sin afectación axilar, y las subdividen por grupos moleculares en 5 subtipos (Luminal A, Luminal B, HER2, Normal-Like y Basal-Like) estudiando los diferentes patrones de recaídas, que expresamos a continuación en forma de tabla.

	HUESO	PULMÓN	HÍGADO	CEREBRO	PLEURA	TOTAL
Luminal B	26	11	2	1	5	45
Luminal A	22	2	4	1	5	34
HER2	14	4	6	3	0	27
Normal Like	4	1	2	1	1	9
Triple Negativo	5	12	4	8	1	30

Tabla 6.- Patrones de recaída. (Smid et al. 2006)

Los datos reflejados en la tabla demuestran, que las pacientes con tumores luminales, tienen recaídas predominantemente en huesos mientras que los HER2 y los basales más en vísceras. Estos autores estudian además las posibles vías de genes que se activan en cada uno de los subtipos y su posible relación con el tipo de metástasis.

Millar, (**Millar et al. 2009**) en un estudio con 498 pacientes y una mediana de seguimiento de 84 meses encuentra mas recaídas locales, mas tumores contralaterales y mas metástasis a distancia, tanto a los 5 como a los 10 años, en los subtipos Basal Like y HER2 enriquecido, seguido de los Luminal B y los que menos con diferencia los Luminal A (en este estudio los subtipos se identificaron por IHC, pero teniendo en cuenta las CK 5 y 6 y el EGFR).

El grupo de Voduc (**Voduc et al. 2010**) en una muestra de 2985 pacientes y un seguimiento de 12 años, estudia las recaídas locales teniendo en cuenta los diferentes subtipos y encuentran que los subtipos con mayor proporción de recaídas locorregionales son los HER2 enriquecidos y los Basal Like y los que menos los Luminal A.

Parece que a la luz de los datos actuales, los diferentes subtipos moleculares presentan diferente patrón de recaída. Los luminales mas en huesos y de forma mas tardía y constante, sobre todo el Luminal A, ya que el B mantiene las características de los otros subtipos y que los basales y HER 2 enriquecido tiene mas recaídas y mas tempranas, aunque se mantienen en el tiempo y recaen tanto en vísceras como locorregional y en huesos, pero proporcionalmente respecto a las Luminal A tienen mas afectación visceral, los HER2 se aproximan mas a este último subgrupo.

4.3.10.- Subtipos intrínsecos y supervivencia global

Aunque hay más datos en relación a la supervivencia global que a la SLE, tenemos los mismos problemas que para los otros análisis pues se hacen de forma retrospectiva, con diferentes divisiones de subtipos y tratamientos.

La base de datos mas importante es la de Blows (**Blows et al. 2010**), que aunque con la limitación que ellos mismos reconocen, los eventos son por certificado de defunción, pero al ser mas de 10,000 pacientes son datos robustos. Las pacientes con tumores Luminal A tienen una supervivencia a 10 años del 72%, las pacientes con tumores Luminal B del 58%, las que padecen tumores subtipo HER2 del 53% y los grupos triple negativo, que en este estudio están divididos en dos grupos como ya hemos comentado, solo triple negativa (CBP) y pacientes con tumores IHC también negativos para CK y EGFR (5NP), tienen una supervivencia del 61% y el 65% respectivamente.

Otros autores como Cheang, reflejaron una menor supervivencia con diferencias significativas en los tumores de CBP en comparación con los tumores 5NP (**Cheang et al.2008**), esta observación apoya la idea de que hay dos tipos biológicamente diferentes de los tumores teóricamente Basal-Like por IHC, cuando se considera solo la negatividad a receptores hormonales y HER2 o cuando se considera, también, la negatividad a citoqueratinas 5 y 6 y a EGFR. Este hallazgo no fue confirmado por un estudio pequeño con un poder limitado para detectar diferencias pequeñas (**Jumppanen et al. 2007**). Un tercer estudio informó que el significado pronóstico de los tumores de CBP fue similar a la de los tumores TNP (**Tischkowitz et al. 2007**).

Concluyen que los subtipos Luminal A tienen mejor pronóstico y este es mas importante los primeros años, para disminuir las diferencias con los otros subtipos a lo largo de los años aunque mantenidas. Por otra parte afirman que los subtipos moleculares son un factor pronóstico independiente de los otros factores pronósticos clásicos, como grado, tamaño, ganglios y de la terapia recibida.

El estudio español de Bosch (**Bosch et al. 2009**) también sin pacientes seleccionadas, mostró que las pacientes con tumores con subtipo Luminal A, tuvieron una mortalidad a los 5 años del 7,8%, las Luminal B del 8,3%, las TN del 22,3% y las HER2+/ RH- del 23,1%, siendo estadísticamente significativas las diferencias entre los subtipos luminales y el resto.

Del Casar (**Del Casar et al. 2008**) en un estudio con 787 pacientes estudia la supervivencia por los subtipos de Perou, por IHC y con las peculiaridades que hemos comentado anteriormente y encuentra peor supervivencia en los grupos con HER2 amplificado y Basal-Like respecto de los subtipos luminales.

Hugh (**Hugh et al. 2009**) analizando 1,350 pacientes del estudio BCIRG 001, observo que las pacientes con tumores Luminal A, tuvieron mejor supervivencia seguidas de las pacientes con tumores Luminal B y las del subtipo HER2 amplificado y las que peor pronóstico tuvieron fueron las que tenían el subtipo triple negativo, con el agravante de padecer también una recaída mas temprana junto con las pacientes HER2. En este estudio, cuyo objetivo era comparar dos tipos de tratamientos adyuvantes TAC vs FAC, analizan también retrospectivamente los resultados de los tratamientos, teniendo en cuenta los

subtipos moleculares y encontraron que las pacientes con subtipo Luminal B eran las que mas se beneficiaban del régimen quimioterápico tipo TAC.

Cheang (**Cheang et al. 2009**), estudia los grupos luminales dependiendo tengan o no HER2 amplificado y los niveles de Ki 67, clasificándolos en tres grupos, Luminal A, Luminal B y luminales con HER2 amplificado, con un seguimiento medio de 10 años, observaron que las pacientes con tumores Luminal A (92%) tenían una supervivencia mejor, estadísticamente significativa, que los otros dos grupos 79% y 78% respectivamente.

Dent (**Dent et al. 2007**), comparando solo las pacientes entre triple negativo y el resto, con un seguimiento medio de 8,1 años, reflejaron 3,2 veces mas posibilidades de muerte de estos, en los 5 primeros años que los otros subgrupos, pero esta pauta declina a lo largo de los años, sin llegar a igualarse.

Carey (**Carey et al. 2006**), de un total de 496 pacientes, y un seguimiento máximo de 11 años y mínimo de 8 años, observo que las pacientes con tumores Basal-Like tenían una supervivencia del 75%, las que expresaban amplificación de HER2 del 52%, las del subtipo Luminal A del 84% y las del Luminal B del 89%. Existiendo diferencias significativas entre los Basal-Like y HER2 y los luminales.

Ihemelandu (**Ihemelandu et al. 2007**), estudiando población afroamericana encuentran peor supervivencia en las pacientes con triple negativo y el subgrupo de HER2, respecto a las pacientes luminales.

Recientemente Parker (**Parker et al. 2009**) en un estudio muy complejo donde valora varios factores y modelos pronósticos distintos, y determina los subtipos intrínsecos por una batería de genes, observa en 761 pacientes, sin tratamiento adyuvante, que el tiempo la supervivencia es peor para las pacientes con subtipos Luminal B y HER2 enriquecido, seguido de las que presentan subtipos Basal Like y las que menos eventos son las pacientes con subtipos Luminal A.

El estudio de Nort Carolina, con un seguimiento de mas de 10 años, observa mayor mortalidad tanto en afroamericanas como en blancas, en el subtipo Basal Like y que esto es especialmente llamativo en pacientes blancas posmenopausicas, (**O'Brien et al. 2010**). Millar, en un estudio (**Millar et al. 2009**) en que valora la muerte especifica por cáncer a los 5 y a los 10 años, observa que las pacientes con tumores luminales, tienen una mortalidad del 1,8% y 5,8 % a los 5 y 10 años respectivamente; las Luminal B, del 4,3% y 8,6%, las basales del 11,5% y 15% y las pacientes con HER2 enriquecido del 15,3% y 15,3%.

Con los datos actuales, se puede concluir que las pacientes con tumores Luminal A son las que tienen mejor pronóstico y por tanto mejor supervivencia, y que las pacientes con tumores triple negativo y HER2 amplificado, son las que tienen peor supervivencia; sin embargo el grupo de pacientes con HER2 amplificado y con receptores hormonales positivos (Luminal B de la mayoría de las clasificaciones) tienen un pronóstico intermedio. Por otra parte, las pacientes con tumores Luminal A recaen mas tardía y constantemente, mientras que los pacientes con subtipos triple negativo y HER2 amplificado, suelen recaer de forma temprana y su periodo de recaída es mas corto, dato reflejado en algunos estudios, pero que no corroboran estudios mas recientes.

Debemos matizar algunos aspectos, en estos momentos el subtipo HER2 es una incógnita respecto a las recaídas y a supervivencia global, pues los resultados expuestos son en grupos de pacientes sin tratamiento adyuvante con el anticuerpo monoclonal Trastuzumab, ya que este se aprobó para esta indicación en el año 2003. Parece obvio que de forma intrínseca su comportamiento es peor que los Luminales, aunque ambos estuvieran sin tratamiento específico. Sin embargo en los otros subgrupos los tratamientos también matizan su comportamiento. Se sabe que las pacientes con RE tienen menor mortalidad y además diferida en el tiempo y constante, que algunos autores atribuyeron al tratamiento hormonal (**Berry et al. 2006, Azzato et al. 2009**), aunque estudios muy recientes y con un gran número de pacientes como el de Blow (**Blows et al. 2010**), no encuentra diferencias entre el patrón de recaída en las pacientes tratadas y sin tratar, lo mismo que en el exhaustivo y pormenorizado estudio, respecto a tratamientos y diferentes factores pronósticos como el de Cheang (**Cheang et al. 2009**).

En este sentido, debemos matizar también, que aunque los subtipos Luminal B tienen receptores positivos, su supervivencia en casi todos los estudios es peor que la de las pacientes con subtipo Luminal A. Por tanto los subtipos moleculares, tienen unos patrones de recaída y de supervivencia matizados no solo por los receptores hormonales, si no como se preconizó desde los estudios de Sorlie (**Sorlie et al. 2001**), tienen personalidad propia matizados por la expresión del cluster de genes que se asocian en cada subtipo. El problema de los estudios actuales es la extrapolación de los datos de IHC a los subtipos que matizan los genes y que todos los estudios son retrospectivos con tratamientos y subgrupos distintos, como pone en evidencia el estudio de Parker (**Parker et al. 2009**) que haciendo estudios genéticos, los tumores Luminal B, son de los que tienen peor pronóstico.

4.3.11.- Subtipos intrínsecos y respuesta a la quimioterapia

Los estudios de quimioterapia neoadyuvante han podido determinar si existen respuestas diferentes según los distintos subtipos intrínsecos moleculares, el problema es la selección de la muestra que incluye tumores avanzados localmente y excluyen tumores mas pequeños que habitualmente son hormono dependientes y de los subtipos luminales (**Rouzier et al. 2005, Ronde et al. 2010**).

El estudio de Rouzier (**Rouzier et al. 2005**) con 82 pacientes con tratamiento de quimioterapia neoadyuvante, mostró unas diferencias muy importantes entre el número de respuestas completas patológicas de los tumores Basal-Like y los HER2+, respecto de los luminales (45% vs 6%). Ronde (**Ronde et al. 2010**) en otro estudio de quimioterapia neoadyuvante en 195 paciente observo, que las pacientes con tumores Basal-Like tenían un porcentaje de respuesta completa muy superior a los otros grupos, siendo estadísticamente significativa. En un estudio muy importante por ser un grupo amplio de pacientes, 359, y de la misma institución, Bhargava (**Bhargava et al. 2010**) encontraron, que las pacientes HER2+, tenían un 33% de respuestas patológicas, las pacientes con subtipo triple negativo un 30% mientras que los grupos con tumores luminales tenían solo un 8%; observando la paradoja ya descrita por Carey (**Carey et al. 2007**), que estudio 107 pacientes sometidas a quimioterapia neoadyuvante con AC (adriamicina y ciclofosfamida), observo que las pacientes con tumores clasificados en los subtipos triple

negativo y HER2 amplificado, tenían un importante número de recaídas patológicas (27% y 36%), pero cuando los tumores con estos subtipos no obtenían respuesta completa patológica aunque la respuesta parcial fuera muy importante, superior al 90%, tenían una recaída muy precoz después de la intervención quirúrgica y mala supervivencia.

RESUMEN – los perfiles moleculares, basados en las variaciones en la expresión génica, han identificado varios subtipos del cáncer de mama, son los llamados subtipos intrínsecos. Los subtipos Luminal A y B son los más comunes y constituyen la mayor parte de los cánceres de mama. Los tumores luminales A son los que tienen un mejor pronóstico de todos los subtipos. Los tumores luminales B, tienen una menor expresión de genes relacionados con RH, expresión variable del crecimiento epidérmico humano del receptor del factor-2 (HER2, y una mayor expresión de genes de proliferación. En consecuencia, los tumores luminal B tienen un pronóstico más pobre. Los subtipos HER2-enriquecido (HER2 + / RE-) suelen ser negativos para ER y receptor de progesterona (PR), y positivo para HER2. El mal pronóstico asociado a estos tumores, sin duda, ha sido alterado por las terapias dirigidas contra HER2. Los tumores basales suelen ser ER-negativo, PR-negativo, y HER2-negativo, se ha usado la expresión "triple negativo" para describirlos. Tienen una fuerte asociación con cánceres que se originan en el gen del cáncer de mama BRCA 1, inicio temprano (BRCA1) portadores de la mutación y están sobrerrepresentadas en el cáncer de mama que desarrollaron durante los años de la premenopausia y en las mujeres afroamericanas.



HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

HIPÓTESIS

Los perfiles moleculares basados en las variaciones en la expresión génica han identificado varios subtipos de cáncer de mama, estos son los llamados intrínsecos, aunque con dudas, por la traducción de los diferentes subtipos moleculares a otros identificados mediante estudios por IHC, podemos decir que existen los siguientes subtipos:

SUBTIPOS LUMINALES, que se caracterizan por agrupar tumores que expresan genes de los receptores hormonales y genes que se relacionan con las células luminales. Se han diferenciado dos tipos, los **Luminal A**, con gran expresión de genes estrogénicos, con traducción por inmunohistoquímica, de receptores de estrógenos y/o de progesterona positivos y negatividad de HER2; normalmente son de bajo grado, son los mas numerosos y se asocian a personas de mas edad y posmenopáusicas, son tumores mas pequeños y menos agresivos y suelen tener menor número de recaídas, siendo estas fundamentalmente óseas y presenta en conjunto una mejor supervivencia. El otro subtipo es el **Luminal B**, que también agrupa a genes hormonales, pero que se asocia a genes altamente proliferativos, su traducción por IHC es mas difícil, expresan receptores de estrógenos y/o de progesterona y para diferenciar el componente altamente proliferativo, se ha utilizado el grado, la amplificación de HER2 y recientemente la alta expresión de Ki 67. Son menos numerosos que los Luminal A, aunque su proporción depende de los parámetros utilizados para su división. Ocupan clínicamente una situación intermedia entre los Luminal A y los otros subtipos.

SUBTIPOS NO LUMINALES, o sea sin agrupación de genes hormonales, se subdividen dependiendo que agrupen genes de la vía del HER2 o no lo hagan, así tenemos el subtipo **HER2 enriquecido**, que se asocia a genes de proliferación y que suele representar el 10-20% de todos los tumores, tiene un patrón de recaída temprana y visceral y peor pronóstico que el Luminal A. No hay datos consistentes con las nuevas terapias. El otro tipo es el **Basal Like**, que es un tumor que agrupa genes que expresan patrones basales de las células mioepiteliales de la mama, y no tiene genes de las vías hormonales ni de agrupamiento de HER2; se traduce en IHC, por negatividad de receptores de estrógenos y progesterona y de HER2, por lo cual se ha llamado triple negativo, aunque en estudios mas sofisticados desde el punto de vista IHC, para identificar el subtipo basal se exige CK 5 y 6 y EGFR. Algunos autores a este grupo lo dividen en dos dependiendo de que sean quintuple negativo (RE, RP, HER2, CK y EGFR negativos) o solo los tres primeros, este se asemejaría mas al autentico Basal Like de los estudios moleculares. La mayoría de las pacientes que tienen mutaciones en la línea germinal de BRCA1, suelen ser portadoras de tumores Basal Like. Suelen ser tumores con mal pronóstico, recaídas mas tempranas y afectación en pacientes mas jóvenes que los subtipos luminales, no tienen terapia especifica, aunque responden bien a tratamientos con quimioterapia.

Por tanto, la conocida heterogenicidad del cáncer de mama esta mediada por diferentes genes, que Perou en el año 2000, agrupó mediante estudios de micro-arrays en 4 subtipos, que tenían unas características anatomoclínicas distintas. Desde entonces múltiples estudios han pretendido identificar dichos subtipos intrínsecos mediante técnicas de IHC, para poder aplicarlos a la práctica clínica.

Nosotros pretendemos estudiar de forma retrospectiva las pacientes con cáncer de mama del Hospital Universitario de Salamanca, identificando los subtipos moleculares por inmunohistoquímica, para saber sus correlaciones demográficas, anatomoclínicas, así como su supervivencia, supervivencia libre de enfermedad y patrón de recaída.

OBJETIVOS

1º.- Identificar en nuestra población los subtipos intrínsecos moleculares de cáncer de mama, de forma retrospectiva, utilizando métodos de inmunohistoquímica.

2º.- Estudiar las correlaciones de estos subtipos con los datos demográficos y anatomoclínicos de nuestra muestra.

3º.- Analizar la supervivencia libre de enfermedad, el tipo de recaídas y la supervivencia global según los subtipos identificados.

4º.- Correlacionar, en relación a supervivencia libre de enfermedad y supervivencia global, los subtipos moleculares con los otros factores pronósticos clásicos (T, N y grado).



PACIENTES Y MÉTODOS

1.- PACIENTES

Se han seleccionado las historias clínicas de las pacientes diagnosticadas de cáncer de mama infiltrante local-regional, seguidas y tratadas en el Servicio de Oncología Médica del Hospital Universitario de Salamanca en el periodo comprendido entre el 1 de enero de 1998 y el 31 de diciembre de 2007.

Las historias revisadas han sido 1.153, recogiendo los siguientes datos.

A.- DEMOGRÁFICOS

- 1.- Edad al diagnóstico.
- 2.- Sexo.
- 3.- Estado menstrual.
- 4.- Edad de la menarquia
- 5.- Edad de la menopausia.
- 6.- Numero de hijos.
- 7.- Edad del primer embarazo.
- 8.- Lactancia materna.
- 9.- Antecedentes familiares de patología tumoral.
- 10.- Antecedentes familiares de patología tumoral de mama.
- 11.- Antecedentes familiares de cáncer de ovario.
- 12.- Toma de anticonceptivos.
- 13.- Terapia hormonal sustitutiva.

B.- DATOS DEL TUMOR

- 1º.- TNM (tamaño del tumor en centímetros y número y situación de los ganglios, existencia o no de metástasis y localización de las mismas).
- 2º.- Tipo anatomopatológico.
- 3º.- Grado tumoral.
- 4º.- Receptores de estrógenos.
- 5º.- Receptores de progesterona.
- 6º.- HER2.

C.- DATOS EN RELACIÓN CON EL TRATAMIENTO

- 1º.- Tipo de cirugía y fecha de la misma.
- 2º.- Estudio o no de ganglio centinela.
- 3º.- Radioterapia si o no y tipo de la misma.
- 4º.- Tratamiento sistémico.

Tipo de quimioterapia

Tipo de hormonoterapia

Tipo de anticuerpos monoclonales

D.- DATOS DE SEGUIMIENTO

- 1º.- Aparición o no de recaídas.
- 2º.- Fecha de la recaída.
- 3º.- Localización y número de recaídas.
- 4º.- Tipo de tratamiento a la recaída.
- 5º.- Respuesta a la recaída.
- 6º.- Duración del tratamiento.
- 7º.- Tipo de tratamiento y siguientes recaídas.
- 8º.- Causa de muerte.
- 9º.- Tiempo libre de enfermedad.
- 10º.- Tiempo de supervivencia global.

2.- METODOLOGÍA DEL ESTUDIO

2.1.- SELECCIÓN DE PACIENTES PARA EL ESTUDIO

Para entrar en el estudio hemos exigido los siguientes criterios:

2.1.1.- Criterios de inclusión

- a.- Pacientes sin metástasis al diagnóstico.
- b.- Pacientes con diagnóstico anatomopatológico confirmado.
- c.- Pacientes con determinaciones por inmunohistoquímica de:
 - Receptores de estrógenos
 - Receptores de progesterona
 - HER2 por IHQ y los HER2 ++ por determinación por FIHS.
- d.- TNM completo y correcto.
- e.- Las pacientes deberían haber sido tratadas en el servicio de Oncología Médica del Hospital Universitario de Salamanca y con seguimiento realizado en el mismo.
- f.- Fecha y tipo de recaída.
- g.- Fecha y causa de defunción.

2.1.2.- Criterios de exclusión

- a.- Pacientes varones.
- b.- Pacientes con tumores metastáticos de mama.
- c.- Pacientes con tumores “in situ” de mama.

- d.- Pacientes con patología tumoral previa diferente de la mama, a no ser carcinoma de cervix in situ o tumores basocelulares
- e.- Pacientes sin filiación correcta.
- f.- Pacientes sin edad al diagnóstico.
- g.- Pacientes sin seguimiento por el servicio de Oncología Médica.
- h.- Pacientes a las que no se les realizó seguimiento por pérdida.
- i.- Cualquier paciente que no cumpliera los criterios de inclusión.

2.2.- ESTUDIOS REALIZADOS A LAS PACIENTES INCLUIDAS

Las pacientes que cumplieron los criterios de inclusión y de exclusión fueron 816, a estas pacientes les hemos estudiado los siguientes datos:

Datos analizados

A.- Datos demográficos

- 1º.- Edad.
- 2º.- Sexo.
- 3º.- Estado menstrual.
- 4º.- Edad de la menarquia
- 5º.- Edad de la menopausia
- 6º.- Número de hijos.
- 7º.- Tipo de lactancia.
- 8º.- Antecedentes familiares oncológicos.
- 9º.- Antecedentes familiares de cáncer de mama y de ovario.

B.- Datos del tumor:

- 1º.- Tipo anatomopatológico.
- 2º.- Tamaño del tumor y clasificación de la T.
- 3º.- Afectación ganglionar y clasificación de la N.
- 4º.- Receptores de estrógenos, por IHC.
- 5º.- Receptores de progesterona por IHC.
- 6º.- Grado histológico.
- 7º.- Amplificación de HER2, por IHC; si es ++, se realiza hibridación fluorescente in situ.

C.- Datos de seguimiento

- 1º.- Recaída si ó no.
- 2º.- Tipo de recaída.

3º.- Muerte si ó no.

4º.- Causa de muerte.

2.3.- ANÁLISIS DE LOS DATOS

A.- Datos demográficos:

La edad de las pacientes se ha considerado la que tenían en el momento del diagnóstico.

En el análisis del estado menstrual, hemos hecho dos grupos, premenopáusicas y posmenopáusicas. Se consideraban posmenopáusicas a las pacientes que no hubieran tenido la menstruación en los 2 últimos años, o en el último año si tenían determinaciones hormonales en rango de menopáusica.

El número de hijos lo hemos considerado de forma global.

Lo mismo con los antecedentes familiares oncológicos, solo se consideraban positivos o negativos, si existían familiares de cualquier grado.

Para los antecedentes oncológicos en mama se ha tenido en cuenta el grado de parentesco.

B.- Datos del tumor:

Anatomía patológica, se han considerado 5 grupos: los tipos ductales, lobulillares, mucinosos, inflamatorios y otros.

La clasificación de la T, para el estudio descriptivo se ha considerado teniendo en cuenta la clasificación TNM de la sexta edición del Cancer Staging Manual de la AJCC (American Joint Cancer Committee), pero para el estudio estadístico comparativo, hemos considerado solo 2 grupos, tumores con menos de 2 cm. (T1) y con mas de 2 cm. (T2, T3 y T4).

La clasificación de la N, se ha considerado teniendo en cuenta la clasificación de TNM de la sexta edición del Cancer Staging Manual de la AJCC (American Joint Cancer Committee) (Greene et al. 2002) para el estudio descriptivo, pero para el estudio comparativo hemos dividido la afectación ganglionar en dos grupos, sin afectación ganglionar (N0) y con afectación ganglionar (N1, N2 y N3).

En el grado histológico, se han seguido los criterios del servicio de Anatomía Patológica del Hospital Universitario de Salamanca, considerando grados, G1, G2 y G3. Para los estudios descriptivos hemos considerado los 3 tipos, pero para los estudios comparativos los hemos dividido en dos grupos, los bien y moderadamente diferenciados en un grupo y los pobremente diferenciados en otro grupo.

Los datos sobre los receptores de estrógenos y progesterona, se han recogido por la clasificación del servicio de anatomía patológica del HUSA, que los clasifican en -, +, ++ y +++. Para este estudio siguiendo los criterios de Carey (Carey et al. 2006), los hemos considerado como positivos (+, ++ y +++), siempre que fueran positivos los de receptores de estrógenos y/o progesterona y negativos si no lo era al menos uno de ellos (-).

La determinación de HER2, se realizó en el servicio de anatomía patológica del HUSA, la primera determinación por IHC, clasificándolos en -, +, ++ y +++. Se consideró HER2 amplificado cuando tenía +++. Cuando existían ++, se hacía la determinación por hibridación fluorescente in situ, si el resultado era positivo, se consideraba que estaba amplificado. Para el estudio se dividió en dos grupos, negativos (los -, + y ++ que no tuvieran FISH positivo) y positivos, los de +++ por IHC o amplificado por FISH.

C.- Datos del seguimiento:

Se calculó el intervalo libre de enfermedad, tomando como fecha inicial la de la intervención quirúrgica y como fecha final la de la última revisión, que en todas las pacientes fue cuando menos una en los 6 últimos meses anteriores al cierre de la base de datos para el estudio. En las pacientes con recaída se toma la fecha de esta. También se consideró en la recogida del dato como estar libre de enfermedad, la fecha del fallecimiento de las pacientes muertas por causas distintas a su enfermedad. El intervalo libre de enfermedad (ILE) se midió en días y se transformó en meses para mayor comodidad. La supervivencia libre de enfermedad, se consideró como el tiempo que transcurrió desde la cirugía hasta la recaída si la hubo o muerte por otra causa diferente del tumor.

La supervivencia global, se tipificó desde la fecha de la intervención hasta la fecha de fallecimiento de la paciente. Se consideró que era por la enfermedad, siempre que hubiera recaída de la enfermedad y esta no estuviera controlada. Se calculó en días, y se transformó en meses para comodidad.

Se tuvo en cuenta también el tipo de recaída, considerándose dos grupos, recaídas viscerales y otras, en este último grupo se incluyeron, las recaídas locales, dérmicas, ganglionares y óseas.

D.- Subtipos intrínsecos de Perou

Como hemos expuesto en la hipótesis y objetivos, pretendemos estudiar los subtipos intrínsecos descritos por Perou, adaptándolos a los datos de IHC, para ello, hemos agrupado a las pacientes en los 4 subtipos intrínsecos siguiendo los criterios descritos por Carey, de grupo de Perou (Carey et al. 2006):

Subtipo Luminal A: receptores de estrógenos y/o de progesterona positivos y HER2 negativo.

Subtipo Luminal B: receptores de estrógenos y/o progesterona positivos y HER2 positivo.

Subtipo HER2 enriquecido: receptores de estrógenos y progesterona negativos y HER2 positivo.

Subtipo Basal Like: receptores de estrógenos, receptores de progesterona y HER2 negativos.

En el análisis de los resultados, no se han tenido en cuenta los datos relativos al tratamiento para no fraccionar más los subgrupos, todas las pacientes fueron tratadas según los protocolos del Servicio de Oncología Médica del HUSA.

2.4.- METODOLOGÍA EMPLEADA PARA EL ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS

A.- Datos demográficos, en los que se describen la edad, el estado menstrual de la paciente, el número de hijos, edad al nacimiento del primer hijo, lactancia y antecedentes de patología tumoral familiar.

B.- Características del tumor: tipo histológico, T, primero por T1, T2, T3 y T4, posteriormente se divide solo en dos grupos T1 y el resto. N, se describe primero como N0, N1, 2 y 3 y posteriormente como N negativo o positivo. El grado se tiene en cuenta los tres tipos y posteriormente se agrupan los grados I y II versus el grado III.

C.- Se clasifican las pacientes por subtipos intrínsecos, siguiendo los criterios de IHC, Luminal A (RE y/o RP positivos y HER2 negativo), Luminal B (RE y/o RP positivos y HER2 positivo), HER2 (RE y/o RP negativos y HER2 positivo) y Basal-Like (RE, RP y HER2 negativos).

D.- Relación de los subtipos intrínsecos con la T, la N y el Grado.

E.- Estudio de supervivencia libre de enfermedad (S.L.E.), según los factores pronósticos clásicos, T., N y Grado.

F.- Estudio de los subtipos intrínsecos en relación a la S.L.E.

G.- Estudio del tipo de recaída y su relación con los subtipos intrínsecos.

H.- Estudio de supervivencia global (SG), según los factores pronósticos clásicos.

I.- Estudio de SG según los subtipos de intrínsecos.

J.- Estudio multivariable de los subtipos intrínsecos y los factores pronósticos clásicos en relación a la supervivencia libre de enfermedad y supervivencia global.

2.5.- ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los resultados para las variables continuas fueron expresados como media más desviación estandar. Los análisis entre dos grupos se realizaron con t de student. Para el análisis de más de dos grupos se utilizó el test de ANOVA, empleando el test de Bonferroni para los análisis a posteriori. Las variables cualitativas se analizaron con el test de chi cuadrado (X^2) de Pearson y el estadístico de Fisher para la muestra con menos de 5 sujetos, expresando la magnitud de la asociación mediante la Odds ratio (OR) y la precisión mediante el intervalo de confianza de la OR.

Para el análisis multivariable se utilizó el modelo proporcional de Cox.

Para la SLE y la SG se ha seguido el método de Mantel- Haenszel y el test de Kaplan Meyer.

En todos los casos se considera que existen diferencias estadísticamente significativas cuando se obtengan valores de $p < 0,05$.

El análisis estadístico se realizó con el programa SSPS 15.0 (SPSS. Inc., Chicago, IL, EEUU) por persona independiente al estudio.



RESUMEN

Las pacientes que reunían los criterios de inclusión y no tenían ninguno de exclusión fueron 816, estas habían sido tratadas y seguidas por cáncer de mama infiltrante no metastásico desde el 1 de enero de 1998 hasta el 31 de diciembre de 2007. Todas las pacientes tienen datos completos de edad, sexo, estado menstrual, tipo anatomopatológico, clasificación TNM, determinación de receptores de estrógenos y progesterona, determinación de HER2 y seguimiento estricto, donde consta la fecha y tipo recaída y si han fallecido, fecha y causa. El grado histológico aparecía en todas, sin embargo, la descripción no se correspondía con las categorías habitualmente aceptadas en 93 pacientes; este dato perfectamente tabulado está en 723 enfermas. Todas las pacientes fueron seguidas hasta julio de 2009, cuando se cerró la base de datos para el presente estudio. Otros resultados como, paridad, edad del primer hijo, edad de la menarquia, edad de la menopausia, lactancia o antecedentes familiares no están completos, pero los recogen en un número importante de historias de las pacientes por lo que se ha incluido.

1.- DATOS DEMOGRÁFICOS Y FACTORES DE RIESGO

1.1.- EDAD

La edad de las pacientes al diagnóstico fue de 58,9 años de media, desviación estándar de 14,38 años, edad máxima 95 años, edad mínima 26 años, mediana de edad 59 años.

1.2.- ESTADO MENSTRUAL

Un 34,1% de las pacientes eran premenopáusicas en el momento del diagnóstico (278) y un 65,9% eran postmenopáusicas (538).

1.3.- EDAD DE LA MENARQUIA

Consta este dato en 450 pacientes, en este grupo la edad media de la menarquia fue de 13,15 años y la desviación típica de 1,56, edad máxima 18 años, edad mínima 9 años, mediana 13,3 años.

1.4.- EDAD DE LA MENOPAUSIA

Aparecen datos recogidos en 288 pacientes de un total de 538 mujeres posmenopáusicas, la edad media fue de 49,92 años, desviación típica de 4,25 años, edad mínima de 39 años, máxima de 60 años, mediana de 50 años.

1.5.- PARIDAD

Hay datos de este evento en 548 pacientes, de las cuales no tenían hijos 98 pacientes y 450 tuvieron descendencia, de forma global se refleja una media de 2,05 hijos por mujer con una desviación típica de 1,604. Considerando el número mínimo de hijos 0 y el máximo 17, mediana de 2.

1.6.- EDAD DEL PRIMER PARTO

Aparecen datos en solo 183, de las 450 que tuvieron descendencia, la edad media del primer parto fue de 25,76 años con una desviación típica de 4,420 años. La paciente que tuvo a su primer hijo a una edad mas temprana tenía 16 años y la mas añosa 42 años. La mediana de edad del primer parto fue de 25 años.

1.7.- LACTANCIA MATERNA

De las 450 mujeres que tuvieron hijos, hay datos de lactancia en 180, de ellas dieron de mamar a sus hijos 142 y no lo hicieron 38 pacientes.

1.8.- ANTECEDENTES FAMILIARES ONCOLÓGICOS

Existen datos sobre antecedentes oncológicos en 629 pacientes y no aparecen en 187.

Cuando son datos específicos en relación al cáncer de mama, tienen antecedentes 235 de las mujeres, pero de forma muy dispersa; considerando solo a las pacientes que tenían antecedentes en familiares de primer y segundo grado, aparecen en 187 casos, la distribución se refleja en la tabla 7.

ANTECEDENTES FAMILIARES (cáncer de mama)		
parentesco	frecuencia	porcentaje
Madre	48	7,63
Hijas	8	1,27
Hermanas	57	9,06
Abuelas	24	3,81
Tías carnales	50	7,94
Total	187	29,729

Tabla 7.- Antecedentes familiares (parentesco cáncer de mama)

2.- CARACTERÍSTICAS DEL TUMOR

Los datos que se han considerado en las características del tumor son el tipo anatomopatológico, haciendo especial referencia a la T y a la N, ya que todas las pacientes del estudio son M0, también se valoró el grado histológico, que no constaba en 93 pacientes. Aunque como características del tumor también se podían considerar los receptores hormonales y el estado de HER2, los hemos valorado en apartado diferente, ya que estas características son las que definen por inmunohistoquímica los subtipos intrínsecos descritos por Perou y que son el objetivo de este trabajo.

2.1.- TIPOS ANATOMOPATOLÓGICOS

Hay datos de todas las pacientes por tratarse de uno de los criterios de inclusión. El 79,3% de las pacientes tenían tumores ductales infiltrantes (647), un 8,9% lobulillares infiltrantes y solo el 0,6% eran medulares; el 1% de las pacientes tenían tumores inflamatorios, y 83 pacientes (10,2%) que se incluyeron en miscelánea, eran mixtos o de otros tipos menos numerosos, como mucinosos, coloide, etc.

2.2.- CARACTERÍSTICAS DE LA T.

Las pacientes con tumores menores de 2 cm., o sea T1 representan el 52% (424), el 38% (310) de las pacientes tenían tumores T2, solo el 4,5% (37) tenían T3 y el 5,5% (45) de ellas presentaban tumores T4.

Para una mayor facilidad de estudio se dividieron las pacientes en dos grandes grupos, con tumores hasta 2cm. (52%) y las que tenían tumores iguales o mayores de 2cm. (48%). Se representan en la tabla 8.

GRUPOS POR TAMAÑO DE LA T, CODIFICADOS				
	Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Válidos 0	424	52	52	52
Válidos 1	392	48	48	100
Total	816	100	100	

Tabla 8.- Grupos teniendo en cuenta el tamaño de la T agrupándolos. (0, significa T1 y 1, significa T2, T3 y T4)

2.3.- CARACTERÍSTICAS DE LA N.

La afectación ganglionar ha sido y es uno de los factores pronósticos mas importantes en el cáncer de mama. Siguiendo los criterios de clasificación TNM de la sexta edición del Cancer Staging Manual de la American Joint Cancer Committee (Greene et al. 2002), no tenían tumor en los ganglios (N0) 462

pacientes (56,6%), eran N1 206 (25,2%), N2 78 pacientes (9,6%) y N3 solo 70 pacientes que representan el 8,6%.

También hemos dividido a las pacientes, en este apartado, en dos grupos, las que no tienen afectación ganglionar que representan 56,6% del total de la muestra y las que tienen afectación ganglionar que son el 43,4% del total. Se representan en la tabla 9.

GRUPOS POR AFECTACION GANGLIONAR, CODIFICADOS				
	Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Válidos 0	462	56,6	56,6	56,6
Válidos 1	354	43,4	43,4	100
Total	816	100	100	

Tabla 9.- Afectación ganglionar. Grupos. (N codificada, 0 son los ganglios negativos y 1 los ganglios positivos)

2.4.- CARACTERÍSTICAS DEL GRADO DE DIFERENCIACIÓN TUMORAL

Otro factor pronóstico clásico ha sido y es el grado de diferenciación. Según el Servicio de anatomía patológica del HUSA, se han considerado 3 grados, (bien diferenciado que se clasifica como 1, moderadamente diferenciado se denomina 2 y pobremente diferenciado al que se asigna el número 3). Están correctamente reflejados en 723 historias y mal tabulados en 93. Bien diferenciados eran 149 tumores (20,6%), moderadamente diferenciados 288 tumores (39,8%) y pobremente diferenciado 286 tumores (39,5%). También hemos dividido a esta variable en dos grupos, según las pacientes tuvieran tumores grado 1 y 2 o tuvieran tumores grado 3.

GRADO CODIFICADO		
	Frecuencia	Porcentaje
Válidos 0	437	60,45
Válidos 1	286	39,55
Total	723	100

Tabla 10.- grado codificado. (0, pacientes con grado 1 y 2; 1, pacientes con grado 3)

3.- SUBTIPOS INTRÍNSECOS DE CÁNCER DE MAMA

Los criterios inmunohistoquímicos (IHC) que se han seguido para clasificar a las pacientes en grupos que se puedan corresponder con los subtipos moleculares intrínsecos de Perou, siguiendo los criterios publicados por Lisa Carey del grupo de Perou (Carey et al. 2002) son:

1.- Subtipo Basal Like o triple negativo: tumores que mediante IHC, tuvieran receptores de estrógenos negativos, receptores de progesterona negativos y HER2 negativo (se considero que HER2 era negativo cuando tenía solo una + o dos ++, pero HER2 no amplificado por FIHS).

2.- Subtipo Luminal A: tumores con receptores de estrógenos y/o progesterona, positivos por IHC y HER2 negativo (se considero que HER2 era negativo cuando tenía solo una + o dos ++, pero HER2 no amplificado por FIHS).

3.- Subtipo Luminal B: receptores de estrógenos y/o progesterona positivo por IHC y HER2 positivo (se considero positivo, cuando por IHC había +++ , o solo ++ pero HER2 amplificado estudiado por FIHS).

4.- Subtipo HER2 enriquecido: tumores que mediante IHC, tuvieran receptores de estrógenos negativos, receptores de progesterona negativos y HER2 positivo (Se considero positivo, cuando por IHC había +++ , o solo ++ pero HER2 amplificado estudiado por FIHS). Los resultados de esta división se muestran en la tabla 5.

En nuestro estudio aparecen con subtipo Luminal A 567 pacientes, que representan el 69,5% del total, seguidas de las pacientes con subtipo Luminal B, que son 113 y representan el 13,8%, el tercer subtipo en frecuencia es el Basal Like o triple negativo, que se encontró en 77 pacientes y representa el 9,4% y las menos frecuentes tenían el subtipo de HER2 amplificado y fueron 59 pacientes, representando el 7,2%.

SUBTIPOS INTRINSECOS		
	Frecuencia	Porcentaje
Válidos Basal Like	77	9,4
HER2+, HER2-	59	7,2
Luminal A	567	69,5
Luminal B	113	13,8
Total	816	100

Tabla 11.- Subtipos intrínsecos por criterios de inmunohistoquímica

4.- ESTUDIO DE CORRELACIONES DE LOS SUBTIPOS INTRÍNSECOS CON VARIABLES DEMOGRÁFICAS Y FACTORES DE RIESGO

4.1. – RELACIÓN DE LA EDAD AL DIAGNÓSTICO CON LOS SUBTIPOS INTRÍNSECOS

La edad en el momento del diagnóstico, según los distintos subtipos fue la siguiente:

Subtipo Basal Like: número de pacientes 77, edad media: 57,12 años, desviación estándar 15,74, mediana: 57 años, edad mínima al diagnóstico 31 años, edad máxima al diagnóstico: 95 años.

Subtipo HER2 enriquecido: número de pacientes 59, edad media: 59,73 años, desviación estándar 14,51, mediana 63 años, edad mínima al diagnóstico: 31 años, edad máxima al diagnóstico: 84 años.

Subtipo Luminal A: número de pacientes 567, edad media 59,31 años, desviación estándar: 13.981 años, mediana: 59 años, mínima 26 años, máxima: 89 años.

Subtipo Luminal B: número de pacientes 113. Edad media: 57,65 años, desviación estándar: 15,34, mediana: 56 años, edad mínima al diagnóstico: 28 años, edad máxima al diagnóstico 90 años.

El estudio comparativo de las edades en relación a los subtipos intrínsecos, realizados mediante el método del chi cuadrado, **no ha encontrado diferencias estadísticamente significativas. P: 0,442.**

4.2.- RELACIÓN DE LOS SUBTIPOS INTRÍNSECOS CON EL ESTADO MENSTRUAL

El estado menstrual de las pacientes según los distintos subtipos fue el siguiente

Subtipo Basal Like: número de pacientes 77, de estas premenopáusicas 28 (36,4%) y postmenopáusicas 49 (63,6%).

Subtipo HER2 enriquecido: número de pacientes 59, premenopáusicas 19 (32,2%) y postmenopáusicas 40 (67,8%).

Subtipo Luminal A: número de pacientes 567, premenopáusicas 190 (33,5%) y postmenopáusicas: 377 (66,5%).

Subtipo Luminal B: número de pacientes 113, premenopáusicas 41 (36,3%) y postmenopáusicas: 72 (63,7%)

El estudio estadístico comparativo entre los diferentes subtipos mediante el método de chi-cuadrado, **no mostró diferencias significativas. P= 0,897**

4.3.- RELACIÓN DE LOS SUBTIPOS INTRÍNSECOS CON LA EDAD DE LA MENARQUIA

La edad de la menarquia de las pacientes según los distintos subtipos fue la siguiente

Subbtipo basal Like: número de pacientes 43, edad media 12,95 años, (IC de 95%: 12,54 / 13,37) mínima 9 años, máxima 15 años.

Subtipo Luminal A: número de pacientes 314, edad media 13,13 a. (IC 95%: 12,96/13,31) mínima 9 años, máxima 18 años.

Subtipo Luminal B: número de pacientes: 67, edad media 13,33 años, (IC de 95%: 12,91/13,75), mínima 9 años, máxima 18 años.

Subtipo HER 2 enriquecido: número de pacientes: 26, edad media 13,27 años, (IC de 95%: 12,78/ 13,76), mínima 9 años, máxima 16 años.

El estudio comparativo de las edades en relación a los subtipos intrínsecos, realizados mediante el método del chi cuadrado, **no ha encontrado diferencias estadísticamente significativas. P: 0.626.**

4.4- RELACIÓN DE LOS SUBTIPOS INTRÍNSECOS CON LA EDAD DE LA MENOPAUSIA

Subtipo Basal Like: número de pacientes 25. Edad media 49,36 años (IC de 95% 47,52/51,20), mínimo 39 años, máximo 56 años.

Subtipo Luminal A: número de pacientes 207, edad media 49,71 años. (IC de 95%: 49,14/51,79), mínima 42 años, máxima 60 años.

Subtipo Luminal B: número de pacientes: 39, edad media 50,46 años, (IC de 95%: 49,71/54,40), mínima 42 años, máxima 60 años.

Subtipo HER2 enriquecido: número de pacientes 17, edad media 52,06 años, (IC de 95%: 49,71/54,40) mínima 39 años, máxima 60 años.

El estudio comparativo de las edades en relación a los subtipos intrínsecos, realizados mediante el método del chi cuadrado, **no ha encontrado diferencias estadísticamente significativas. P: 0,118**

4.5.- RELACIÓN SUBTIPOS INTRÍNSECOS Y NÚMERO DE HIJOS

Subtipo Basal Like: número de pacientes 52, media de hijos 1,92 (IC de 95%: 1,56/2,28), mínimo 0, máximo 5.

Subtipo Luminal A: número de pacientes: 387, media de hijos 2,07 (IC de 95%: 1,90/ 2,24), mínimo 0, máximo 17.

Subtipo Luminal B: número de pacientes 71. Media de hijos 1,97 (IC de 95%: 1,64/ 2,31), mínimo 0, máximo 5.

Subtipo HER2 enriquecido: Numero de pacientes 38, media de hijos 2,16 (IC de 95%: 1,92/2,19), mínimo 0, máximo 6.

El estudio comparativo de las edades en relación a los subtipos intrínsecos, realizados mediante el método del chi cuadrado, **no ha encontrado diferencias estadísticamente significativas. P: 0,864**

4.6.- SUBTIPOS INTRÍNSECOS Y RELACIÓN CON LA EDAD DE LA PACIENTE AL NACIMIENTO DEL PRIMER HIJO

Subtipo Basal Like: Número de pacientes que tienen este dato 19, edad media 26,63 años (IC 24,60/ 28,67), mínima 20 años, máxima 36 años.

Subtipo Luminal A: Número de pacientes que tienen este dato 136, edad media 26,25 años (IC de 95 %: 23,56/ 28,94), mínima 16 años, máxima 42 años.

Subtipo Luminal B: número de pacientes que tienen este dato 16, edad media 26,25 años (IC de 95 %: 23,56/28,98), mínima 19 años, máxima 40 años.

Subtipo HER2 enriquecido: número de pacientes que tienen este dato 12, edad media 24,83 años (IC de 95 %: 22,57/27,10), mínima 18 años, máxima 30 años.

El estudio comparativo de las edades en relación a los subtipos intrínsecos, realizados mediante el método del chi cuadrado, **no ha encontrado diferencias estadísticamente significativas. P: 0,679.**

4.7.- RELACIÓN DE LOS SUBTIPOS INTRÍNSECOS Y LACTANCIA MATERNA

Los datos de lactancia están reflejados en pocas pacientes, consta solo en 180 historias.

En el **subtipo Basal Like**, de un total de 19 pacientes, el 73,7% dieron de mamar a sus hijos y el 26,3% no.

En las pacientes con **subtipo HER2 enriquecido**, este dato solo aparece reflejado en 12 de ellas, de estas el 75% dieron de mamar a sus hijos y el 25% no.

Las pacientes del **subtipo Luminal A**, de un total de 126, un 79,4% dio el pecho a sus hijos y un 20,6 % no lo hizo.

Por último del **subtipo Luminal B**, hay datos de 23 pacientes, el 73,9% de las pacientes dieron de mamar y el 26,1% no.

El estudio estadístico comparativo entre los 4 subtipos mediante la prueba el chi-cuadrado, **mostró diferencias significativas entre ellos en relación a la lactancia. P= 0,892**

4.8.- RELACIÓN ENTRE LOS SUBTIPOS INTRÍNSECOS Y ANTECEDENTES FAMILIARES DE CÁNCER DE MAMA

Este dato está recogido en 629 historias. Los resultados son los siguientes:

Subtipo Basal Like: datos de 59 pacientes, con antecedentes cáncer de mama en 18 (30,50%).

Subtipo HER2: datos de 44 pacientes, antecedentes cáncer de mama el 15 (34,09).

Subtipo Luminal A: datos de 441 pacientes, con antecedentes de cáncer mama en el 121 (27,43%).

Subtipo Luminal B: datos de 85 pacientes, antecedentes cáncer de mama 28 (32,94).

El estudio estadístico comparativo entre los diferentes subtipos, mediante la prueba del chi cuadrado, **no mostró diferencias significativas en relación a los antecedentes oncológicos. P= 0,149**

5.- ESTUDIO DE RELACIONES ENTRE LOS SUBTIPOS INTRÍNSECOS Y LAS CARACTERÍSTICAS DEL TUMOR

5.1.- TIPO ANATOMOPATOLÓGICO Y SUBTIPOS INTRÍNSECOS

Hemos dividido los tipos anatomopatológicos en 5 grupos. El primero lo constituyen los tumores de tipo ductal, el segundo los lobulillares, el tercero es el de tumores mucinosos, el cuarto grupo lo integran los tumores inflamatorios y por último el grupo que incluye los restantes tipos menos frecuentes y los tumores mixtos o inclasificables.

Los resultados son los siguientes:

	Basal Like	HER2 enriquecido	Luminal A	Luminal B
Ductal	66 (85,7%)	51 (86,4%)	438 (77,2%)	92 (81,4%)
Lobulillar	2 (2,6%)	0 (0%)	65 (11,5%)	6 (8,2%)
Mucinoso	4 (5,2%)	0 (0%)	1 (0,2%)	0 (0%)
Inflamatorio	0 (0%)	3 (5,1%)	2 (0,4%)	3 (2,7%)
Mixtos	5 (6,5%)	5 (8,5%)	61 (10,6%)	12 (10,2%)

Tabla 12.- Tipo anatomopatológico y subtipos intrínsecos

El estudio estadístico comparativo intergrupos, mediante la prueba del chi- cuadrado, **muestra diferencias significativas de frecuencia de los diferentes tipos histológicos en los distintos subtipos intrínsecos. $P= 0,000$**

5.2.- DISTRIBUCIÓN Y CORRELACIONES DE T Y SUBTIPOS INTRÍNSECOS

El tamaño tumoral, lo hemos referido por la clasificación TNM de la sexta edición del Cancer Staging Manual de la American Joint Cancer Comité (Greene et al. 2002), cuya frecuencia se expresa en la tabla 13

		SUBTIPOS INTRINSECOS				
p.T		Basal Like	HER 2	Luminal A	Luminal B	Total
1	Nº	25	19	334	46	424
	%	32,5	32,2	58,9	40,7	52
2	Nº	42	22	201	45	310
	%	54,5	37,3	35,4	39,8	38
3	Nº	5	7	16	9	37
	%	6,5	11,9	2,8	8	4,5
4	Nº	5	11	16	13	45
	%	6,5	24,4	2,8	11,5	5,5
total	Nº	77	59	567	113	816
	%	100	100	100	100	100

Tabla 13.- Subtipos intrínsecos y T., según la AJCC (Greene et al. 2002)

El estudio comparativo entre los grupos de enfermas con diferente T según la clasificación TNM (Greene et al. 2002) y su distribución según los subtipos intrínsecos, **mostró diferencias estadísticamente significativas (P= 0,000)** entre los diferentes subtipos, mediante el método de la chi cuadrado.

Para realizar un estudio estadístico mas preciso y no subdividir mucho los subgrupos, hemos reunido a las pacientes en dos grandes grupos, las pacientes con tumores menores de 2 cm. (0) y los iguales o mayores de 2 cm. (1). Esta distribución se observa en la tabla 14.

		SUBTIPOS INTRINSECOS				
T cod.		Basal Like	HER 2	Luminal A	Luminal B	Total
0	Nº	25	19	334	46	424
	%	32,5	32,2	58,9	40,7	52
1	Nº	52	40	233	67	329
	%	67,5	67,8	41,1	69,3	48
Total	Nº	77	59	567	113	816
	%	100	100	100	100	100

Tabla 14.- Pacientes con T hasta 2 cm. (0) y pacientes con T igual o mayor de 2 cm. (1)

El estudio comparativo entre los grupos de enfermas con un tumor mayor/igual o menor de 2 cm. y su distribución según los subtipos intrínsecos, **mostró diferencias estadísticamente significativas**

($P=0,000$) entre los diferentes subtipos, mediante el método de la chi cuadrado

Compararemos ahora los diferentes subtipos intrínsecos entre si en relación al tamaño del tumor, considerando este mayor o igual a 2 cm o menor de 2 cm.

5.2.1.- Estudio del tamaño tumoral por subtipos: Basal Like vs Luminal A.

La distribución se muestra a continuación:

TAMAÑO TUMORAL, por subtipos, BASAL LIKE vs LUMINAL A		
T. codificada	Basal Like	Luminal A
0	32,5% (25)	58,9% (334)
1	67,5% (42)	41,1% (233)
Total	100% (77)	100% (567)

Tabla 15.- Tamaño tumoral por subtipos: Basal Like vs Luminal A.

El estudio comparativo mediante chi cuadrado, **mostró diferencias significativas, siendo las pacientes con subtipo Basal Like, las que tiene tumores de mayor tamaño. $P=0,000$**

5.2.2.- Subtipo Basal Like vs Luminal B

Los resultados que aparecen al comparar los subtipos referidos con los grupos de T, se relacionan a continuación

TAMAÑO TUMORAL, por subtipos, BASAL LIKE vs LUMINAL B		
T. codificada	Basal Like	Luminal B
0	32,5% (25)	40,7% (46)
1	67,5% (52)	59,3% (67)
Total	100% (77)	100% (113)

Tabla 16.- Tamaño tumoral por subtipos: Basal Like vs Luminal B

El Estudio comparativo mediante el método de chi cuadrado **no mostró diferencias significativas entre ambos subtipos. $P=0,286$.**

5.2.3.- Subtipo Basal Like vs HER2 enriquecido

Los resultados se expresan a continuación:

TAMAÑO TUMORAL, por subtipos, BASAL LIKE vs HER2 ENRIQUECIDO		
T. codificada	Basal Like	HER2
0	32,5% (25)	32,2% (46)
1	67,5% (52)	67,8% (40)
Total	100% (77)	100% (59)

Tabla 17.- Tamaño tumoral por subtipos: Basal Like vs HER2 enriquecido

El estudio comparativo mediante el método de chi cuadrado **no mostró diferencias significativas entre los subtipos estudiados. P= 1**

5.2.4.- Subtipo Luminal A vs Luminal B

Los resultados de los dos subtipos en relación al tamaño de la T, se muestran a continuación

TAMAÑO TUMORAL, por subtipos, LUMINAL A vs LUMINAL B		
T. codificada	Luminal A	Luminal B
0	58,9% (334)	40,7% (46)
1	41,1% (233)	59,3% (67)
Total	100% (567)	100% (113)

Tabla 18.- Tamaño tumoral por subtipos: Luminal A vs Luminal B

El estudio comparativo mediante el método de la chi cuadrado, **mostró diferencias significativas, teniendo un mayor número de tumores de mas tamaño el subtipo Luminal B. P= 0,000.**

5.2.5.- Subtipo Luminal A Vs HER2 enriquecido

Los resultados en relación al tamaño de la T son los siguientes:

TAMAÑO TUMORAL, por subtipos, LUMINAL A vs HER2 ENRIQUECIDO		
T. codificada	Luminal A	HER2
0	58,9% (334)	32,2% (19)
1	41,1% (233)	67,8% (40)
Total	100% (567)	100% (59)

Tabla 19.- Tamaño tumoral por subtipos: Luminal A vs HER2 enriquecido

El estudio comparativo mediante el método de la chi cuadrado, **mostró diferencias significativas**, las pacientes del subtipo HER2, tenían tumores de mayor tamaño que las del subtipo Luminal A. $P = 0,000$.

5.2.6.- Subtipo Luminal B Vs HER2 enriquecido

Los resultados de los dos subtipos en relación al tamaño de la T se muestran a continuación.

TAMAÑO TUMORAL, por subtipos, LUMINAL B vs HER2 ENRIQUECIDO		
T. codificada	Luminal B	HER2
0	40,7% (46)	32,2% (19)
1	59,3% (67)	67,8% (40)
Total	100% (113)	100% (59)

Tabla 20.- Tamaño tumoral por subtipos: Luminal B vs HER2 enriquecido

El estudio comparativo mediante el método de la chi cuadrado, **no mostró diferencias significativas entre ambos subtipos**. $P = 0,322$.

5.3.- ESTUDIO DE LA AFECTACIÓN GANGLIONAR Y SU DISTRIBUCIÓN SEGÚN LOS SUBTIPOS INTRÍNSECOS

La relación general de los diferentes subtipos intrínsecos y la afectación ganglionar, referida según la clasificación TNM (Greene et al. 2002) se refleja en la tabla 21.

		SUBTIPOS INTRINSECOS				
p. N		Basal Like	HER 2	Luminal A	Luminal B	Total
0	Nº	47	26	334	55	462
	%	61	44,1	58,9	48,7	56,6
1	Nº	16	13	147	30	206
	%	20,8	22	25,9	26,5	25,2
2	Nº	10	6	48	14	78
	%	13	10,2	8,5	12,4	9,8
3	Nº	4	14	38	14	70
	%	5,2	23,7	6,7	12,4	8,6
Total		77	59	567	113	816
		100	100	100	100	100

Tabla 21.- Clasificación de la N y distribución por subtipos intrínsecos

El estudio comparativo entre los diferentes subtipos y la afectación ganglionar **mostró diferencias significativas entre ellos**, mediante el método de chi cuadrado. **P= 0,005**.

También se estudio la afectación axilar, subdividiéndola en 2 grandes grupos, sin afectación (N0) y con afectación axilar (N1) y su relación con los subtipos intrínsecos. Tabla 22.

		SUBTIPOS INTRINSECOS				
N. cod.		Basal Like	HER 2	Luminal A	Luminal B	Total
0	Nº	47	26	334	55	462
	%	61	44,1	58,9	48,7	56,6
1	Nº	30	33	233	58	354
	%	39	55,9	41,1	51,3	43,4
Total	Nº	77	59	567	113	816
	%	100	100	100	100	100

Tabla 22.- Pacientes con N negativo (0) y N positivo (1) y su distribución por subtipos intrínsecos

Los diferentes subtipos intrínsecos mantienen diferentes afectaciones axilares y son estadísticamente significativas por el método del chi cuadrado. **P= 0,038**. El subtipo que presenta mayor afectación axilar es el HER2 + y el que menos, el subtipo Luminal A.

Para poder determinar que grupo es el que muestra mayor o menor afectación axilar iniciaremos un estudio comparando los diferentes subtipos entre si teniendo en cuenta si tienen o no afectación ganglionar.

5.3.1.- Subtipo Basal Like vs subtipo Luminal A

Hemos estudiado la distribución por subtipos citados en el epígrafe según las pacientes tengan afectos o no los ganglios, la distribución se expresa a continuación.

AFECTACIÓN GANGLIONAR y subtipos, BASAL LIKE vs LUMINAL A		
N. codificada	Basal Like	Luminal A
0	61% (47)	58,9% (334)
1	39% (30)	41,1% (233)
Total	100% (77)	100% (567)

Tabla 23.- Afectación ganglionar por subtipos: Basal Like vs Luminal A

El estudio comparativo entre los dos subtipos según tengan o no afectación axilar, mediante el método de chi cuadrado, **no mostró diferencias significativas**. **P= 0,805**.

5.3.2.- Subtipo Basal Like vs Luminal B

Hemos estudiado la distribución por subtipos citados en el epígrafe según las pacientes tengan afectos o no los ganglios. Los resultados se refieren a continuación

AFECTACIÓN GANGLIONAR y subtipos, BASAL LIKE vs LUMINAL B		
N. codificada	Basal Like	Luminal B
0	61% (47)	48,7% (55)
1	39% (30)	51,3% (58)
Total	100% (77)	100% (113)

Tabla 24.- Afectación ganglionar por subtipos: Basal Like vs Luminal B

El estudio comparativo entre los dos subtipos, según tengan o no afectación axilar, mediante el método de chi cuadrado, **no mostró diferencias significativas. P= 0,079.**

5.3.3.- Subtipo Basal Like vs HER2 enriquecido

Hemos estudiado la distribución por subtipos citados en el epígrafe según las pacientes tengan afectos o no los ganglios. Los resultados se refieren a continuación

AFECTACIÓN GANGLIONAR y subtipos, BASAL LIKE vs HER2 ENRIQUECIDO		
N. codificada	Basal Like	HER2
0	61% (47)	44,1% (26)
1	39% (30)	55,9% (33)
Total	100% (77)	100% (59)

Tabla 25.- Afectación ganglionar por subtipos: Basal Like vs HER2 enriquecido

El estudio comparativo entre los dos subtipos, según tengan o no afectación axilar, mediante el método de chi cuadrado, **no mostró diferencias significativas. P= 0,058.**

5.3.4.- Subtipo Luminal A vs subtipo Luminal B

Hemos estudiado la distribución por subtipos citados en el epígrafe según las pacientes tengan afectos o no los ganglios

AFECTACIÓN GANGLIONAR y subtipos, LUMINAL A vs LUMINAL B		
N. codificada	Luminal A	Luminal B
0	59,8% (334)	48,7% (55)
1	41,1% (233)	51,3% (58)
Total	100% (567)	100% (113)

Tabla 26.- Afectación ganglionar por subtipos: Luminal A vs Luminal B

El estudio comparativo entre los dos subtipos, según tengan o no afectación axilar, mediante el método de chi cuadrado, **mostró diferencias significativas, siendo los Luminales A los que tenían mas pacientes sin afectación axilar. $P= 0,046$**

5.3.5.- Subtipo Luminal A vs subtipo HER2 enriquecido

Hemos estudiado la distribución por subtipos citados en el epígrafe según las pacientes tengan afectos o no los ganglios

AFECTACIÓN GANGLIONAR y subtipos, LUMINAL A vs HER2 ENRIQUECIDO		
N. codificada	Luminal A	HER2 enriquecido
0	59,8% (334)	44,1% (26)
1	41,1% (233)	55,9% (33)
Total	100% (567)	100% (59)

Tabla 27.- Afectación ganglionar por subtipos: Luminal A vs HER2 enriquecido

El estudio comparativo entre los dos subtipos, según tengan o no afectación axilar, mediante el método de chi cuadrado, **mostró diferencias significativas, siendo las pacientes del subtipo Luminal A las que tenían menos afectación axilar. $P= 0,038$.**

5.3.6.- Subtipo Luminal B vs HER2 enriquecido

Hemos estudiado la distribución por subtipos citados en el epígrafe según las pacientes tengan afectos o no los ganglios

AFECTACIÓN GANGLIONAR y subtipos, LUMINAL B vs HER2 ENRIQUECIDO		
N. codificada	Luminal B	HER2 enriquecido
0	48,7% (55)	44,1% (26)
1	51,3% (58)	55,9% (33)
Total	100% (113)	100% (59)

Tabla 28.- Afectación ganglionar por subtipos: Luminal B vs HER2 enriquecido

El estudio comparativo entre los dos subtipos, según tengan o no afectación axilar, mediante el método de chi cuadrado, **no mostró diferencias significativas. $P=0.630$.**

5.4.- ESTUDIO DEL GRADO HISTOLÓGICO Y DISTRIBUCIÓN SEGÚN LOS SUBTIPOS INTRÍNECOS

La relación general de los diferentes subtipos de Perou y el grado de diferenciación, según los criterios del servicio de anatomía patológica del HUSA, se estudio el grado de diferenciación, subdividiéndolos en 2 grandes grupos, los grados I y II (G0) y el grado III (G1). Este dato se reflejaba en 723 pacientes. Tabla 29.

		SUBTIPOS INTRINSECOS				
G. cod.		Basal Like	HER 2	Luminal A	Luminal B	Total
0	Nº	15	6	370	46	43760,4
	%	21,4	10,9	74,9	44,2	
1	Nº	55	49	124	58	286
	%	78,6	89,1	25,1	55,8	
Total	Nº	70	55	494	104	723
	%	100	100	100	100	

Tabla 29.- Grado codificado, subtipos intrínsecos

El estudio comparativo entre los grupos de enfermas con tumores mas o menos diferenciados, y su distribución según los subtipos de Perou, **mostró diferencias estadísticamente significativas ($P=0,000$) entre los diferentes subtipos**, mediante el método de la chi cuadrado. **Siendo el subtipo con mas tumores indiferenciados el HER2, seguido del Basal Like y el que menos el Luminal A.**

Estudiaremos la distribución de los tumores según el grado de diferenciación y los compararemos con los diferentes subtipos dos a dos.

5.4.1.- Subtipo Basal Like vs subtipo Luminal A

Hemos estudiado la distribución por subtipos citados en el epígrafe según el grado de diferenciación

GRADO HISTOLÓGICO y subtipos, BASAL LIKE vs LUMINAL A		
G. codificado	Basal Like	Luminal A
0	21,4% (15)	74,9% (370)
1	78,6% (55)	21,5% (124)
Total	100% (70)	100% (494)

Tabla 30.- Grado histológico por subtipos: Basal Like vs Luminal A

El estudio comparativo entre los dos subtipos, según el grado de diferenciación tumoral, mediante el método de chi cuadrado, **mostró diferencias significativas, siendo el subtipo Basal Like el que tenía mayor porcentaje de tumores de alto grado. $P= 0,000$.**

5.4.2.- Subtipo Basal Like vs subtipo Luminal B

Hemos estudiado la distribución por subtipos citados en el epígrafe según el grado de diferenciación de los tumores

GRADO HISTOLÓGICO y subtipos, BASAL LIKE vs LUMINAL B		
G. codificado	Basal Like	Luminal B
0	21,4% (15)	44,2% (46)
1	78,6% (55)	55,8% (58)
Total	100% (70)	100% (104)

Tabla 31.- Grado histológico por subtipos: Basal Like vs Luminal B

El estudio comparativo entre los dos subtipos, según el grado de diferenciación tumoral, mediante el método de chi cuadrado, **mostró diferencias significativas, siendo el subtipo Basal Like el que tenía mayor porcentaje de tumores de alto grado. $P= 0,002$.**

5.4.3.- Subtipo Basal Like vs HER2 enriquecido

Hemos estudiado la distribución por subtipos citados en el epígrafe según el grado de diferenciación tumoral.

GRADO HISTOLÓGICO y subtipos, BASAL LIKE vs HER2 ENRIQUECIDO		
G. codificado	Basal Like	HER2 enriquecido
0	21,4% (15)	10,9% (6)
1	78,6% (55)	89,1% (49)
Total	100% (70)	100% (55)

Tabla 32.- Grado histológico por subtipos: Basal Like vs HER2 enriquecido

El estudio comparativo entre los dos subtipos, según el grado de diferenciación tumoral, mediante el método de chi cuadrado, **no mostró diferencias significativas. P= 0,151.**

5.4.4.- Subtipo Luminal A vs subtipo Luminal B

Hemos estudiado la distribución por subtipos citados en el epígrafe según el grado de diferenciación tumoral

GRADO HISTOLÓGICO y subtipos, LUMINAL A vs LUMINAL B		
G. codificado	Luminal A	Luminal B
0	74,9% (370)	44,2% (46)
1	25,1% (124)	55,8% (58)
Total	100% (494)	100% (104)

Tabla 33.- Grado histológico por subtipos: Luminal A vs Luminal B

El estudio comparativo entre los dos subtipos, según el grado de diferenciación tumoral, mediante el método de chi cuadrado, **mostró diferencias significativas, siendo el subtipo Luminal B el que tenía una proporción mayor de tumores indiferenciados P= 0,000.**

5.4.5.- Subtipo luminal A vs subtipo HER2 enriquecido

Hemos estudiado la distribución por los subtipos citados en el epígrafe, según el grado de diferenciación tumoral

GRADO HISTOLÓGICO y subtipos, LUMINAL A vs HER2 ENRIQUECIDO		
G. codificado	Luminal A	HER2
0	74,9% (370)	10,9% (6)
1	25,1% (124)	89,1% (49)
Total	100% (494)	100% (55)

Tabla 34.- Grado histológico por subtipos: Luminal A vs HER2 enriquecido

El estudio comparativo entre los dos subtipos según el grado de diferenciación tumoral, mediante el método de chi cuadrado, **mostró diferencias significativas, siendo las pacientes del subtipo HER2 las que presentaban tumores mas indiferenciados. $P= 0,000$.**

5.4.6.- Subtipo Luminal B vs HER2 enriquecido

Hemos estudiado la distribución por subtipos citados en el epígrafe según el grado de diferenciación tumoral

GRADO HISTOLÓGICO y subtipos, LUMINAL B vs HER2 ENRIQUECIDO		
G. codificado	Luminal B	HER2
0	44,2% (46)	10,9% (6)
1	55,8% (58)	89,1% (53)
Total	100% (104)	100% (55)

Tabla 35.- Grado histológico por subtipos: Luminal B vs HER2 enriquecido

El estudio comparativo entre los dos subtipos, según el grado de diferenciación tumoral, mediante el método de chi cuadrado, **si mostró diferencias significativas. $P= 0.000$.**

6. SUPERVIVENCIA GLOBAL

6.1.- SUPERVIVENCIA GLOBAL, GRUPO COMPLETO

La mediana de seguimiento de las pacientes fue de 40 meses, aparecen 96 muertes por cáncer, siguen vivas el 88,2% de las pacientes. La supervivencia a los 5 años se estima en más del 85%. (Figura 4)

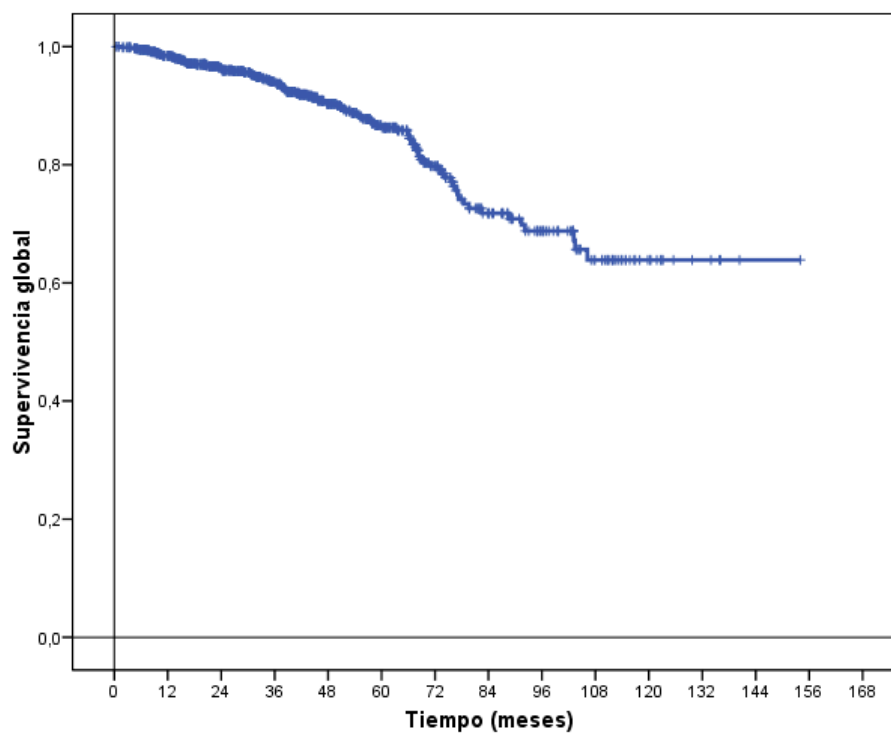


Figura 4.- Supervivencia global de todo el grupo de pacientes

6.2.- SUPERVIVENCIA GLOBAL SEGÚN EL TAMAÑO DEL TUMOR

Se estudia la supervivencia de las pacientes según tuvieran un tumor inferior a 2 cm. o igual o superior a ese tamaño. Las pacientes con tumores de hasta 2 cm., eran 424 y han muerto 21, por tanto están vivas el 95%. De las pacientes con tumores mayores de 2cm., han fallecido 75 de un total de 392, lo que representa el 80.8%.

Estudio estadístico comparativo, Log Rank (Mantel-Cox), chi cuadrado, **muestran diferencias significativas en supervivencia a favor de las pacientes sin afectación axilar. $P = 0.000$** (figura 5)

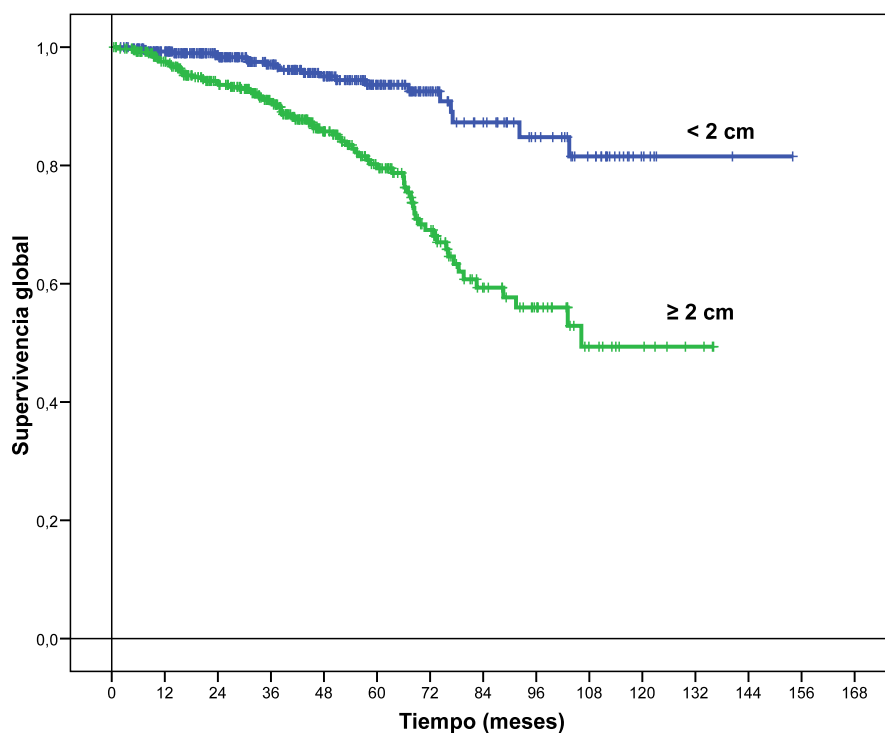


Figura 5.- Supervivencia global según el tamaño del tumor

6.3.- SUPERVIVENCIA GLOBAL SEGÚN LA AFECTACIÓN GANGLIONAR

Se estudia la supervivencia de las pacientes según el estado axilar. Las pacientes con ganglios negativos, eran 462 y han muerto 34, por tanto están vivas el 92,6%. De las pacientes con ganglios afectados han fallecido 62 de un total de 354, lo que representa el 82,5%.

Estudio estadístico comparativo, Log Rank (Mantel-Cox), chi cuadrado, **muestran diferencias significativas en supervivencia a favor de las pacientes sin afectación axilar. $P= 0.001$** (figura 6)

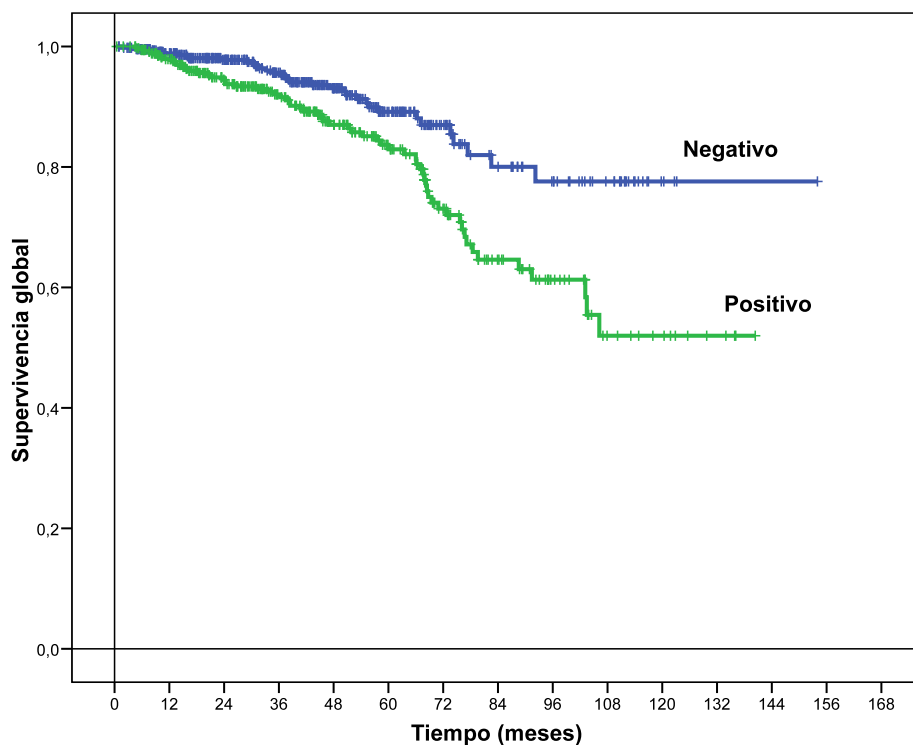


Figura 6.- Supervivencia global según la afectación ganglionar

6.4.- SUPERVIVENCIA GLOBAL SEGÚN EL GRADO DE DIFERENCIACIÓN TUMORAL

Se estudia la supervivencia de las pacientes según el grado de diferenciación, dividiéndolas en dos grupos, las pacientes con tumores bien o moderadamente diferenciados vs las pacientes con tumores pobremente diferenciados o indiferenciados. Las pacientes del primer grupo eran 437 y han muerto 27, por tanto están vivas el 93,82%. De las pacientes del grupo con tumores mas indiferenciados han fallecido 53 de un total de 286, lo que representa el 81,47%. La supervivencia total de este grupo fue del 88,93% a los 40 meses.

Estudio estadístico comparativo, Log Rank (Mantel-Cox), chi cuadrado, **muestran diferencias significativas en supervivencia a favor de las pacientes con tumores mejor diferenciados. $P= 0.000$** (figura 7)

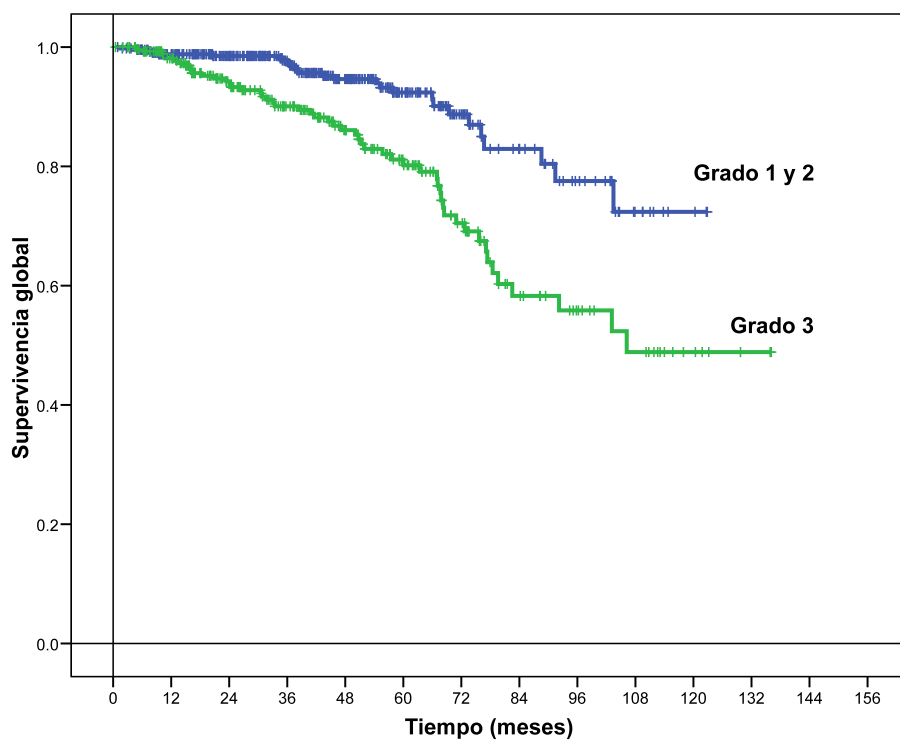


Figura 7.- Supervivencia global según el grado histológico

6.5.- SUPERVIVENCIA GLOBAL POR SUBTIPOS INTRÍNSECOS

La supervivencia según los diferentes subtipos intrínsecos, se especifican en la tabla 13, y se representan en la figura 2. El subtipo de mejor supervivencia es el Luminal A, seguido del Luminal B, del Basal Like y el de peor pronóstico el HER2.

El estudio estadístico demuestra que existen diferencias significativas entre los subtipos en relación a la supervivencia, según chi cuadrado $P= 0,000$. (tabla 36, figura 8)

Clasificación	Nº total	Nº eventos	Nº censurados	Porcentaje censurados
Basal Like	77	21	56	72,73%
Luminal A	567	41	526	92,8%
Luminal B	113	14	99	87,6%
HER2 enriquecido	59	20	39	66,1%
Global	816	96	720	88,2%

Tabla 36.- Subtipos y supervivencia global

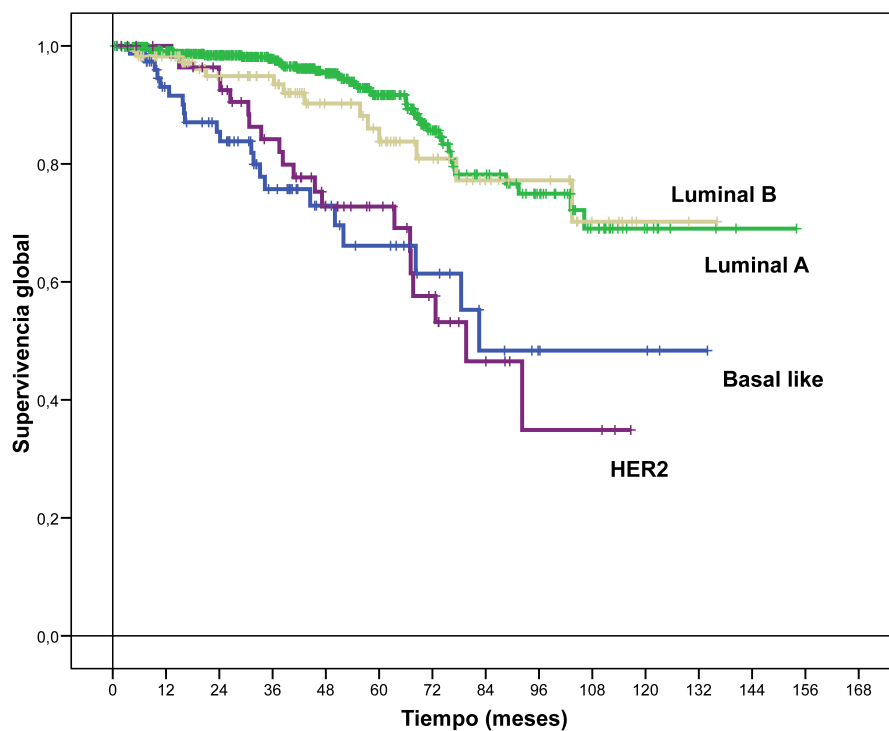


Figura 8.- Supervivencia global según los subtipos intrínsecos

6.5.1.- Supervivencia global subtipos Basal Like vs Luminal A

Los datos se especifican a continuación:

SUPERVIVENCIA GLOBAL y subtipos, BASAL LIKE vs LUMINAL A		
	Eventos	Porcentaje vivas
Basal Like	21	72,73%
Luminal A	41	92,8%

Tabla 37.- Supervivencia global por subtipos: Basal Like vs Luminal A

Estudio estadístico comparativo, Log Rank (Mantel-Cox), chi cuadrado, **muestran diferencias significativas en supervivencia a favor del subtipo Luminal A. $P= 0.000$ (figura 9)**

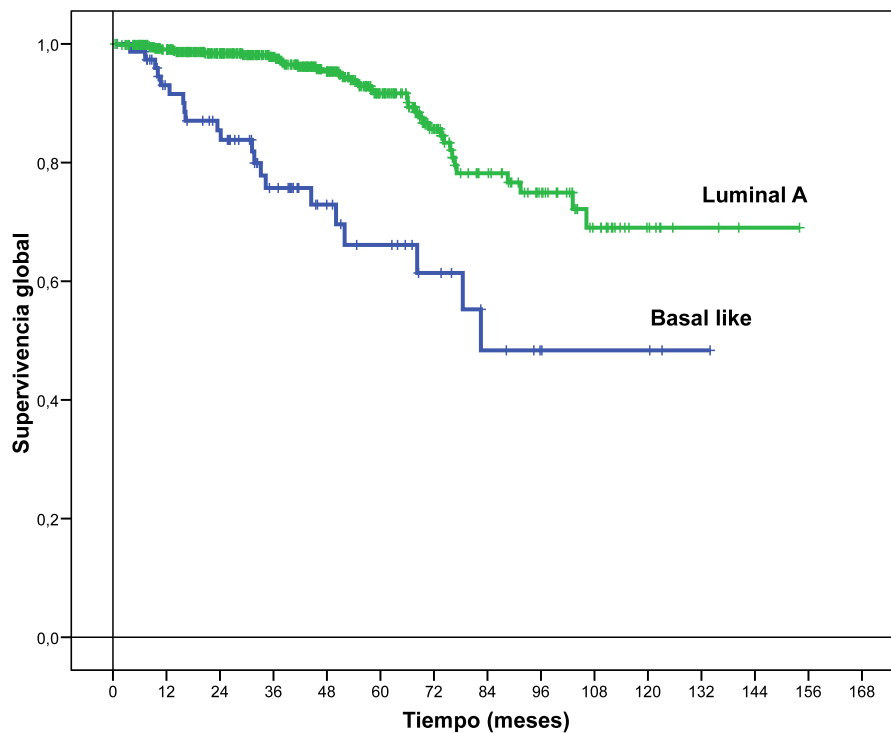


Figura 9.- Supervivencia global subtipos, Basal Like vs Luminal A

6.5.2.- Supervivencia global subtipos, Basal like vs Luminal B

Los resultados se exponen a continuación:

SUPERVIVENCIA GLOBAL y subtipos, BASAL LIKE vs LUMINAL B		
	Eventos	Porcentaje vivas
Basal Like	21	72,73%
Luminal B	14	87,6%

Tabla 38.- Supervivencia global por subtipos: Basal Like vs Luminal B

Estudio estadístico comparativo, Log Rank (Mantel-Cox), chi cuadrado, **muestran diferencias significativas en supervivencia a favor del subtipo Luminal B. $P= 0.003$ (figura 10)**

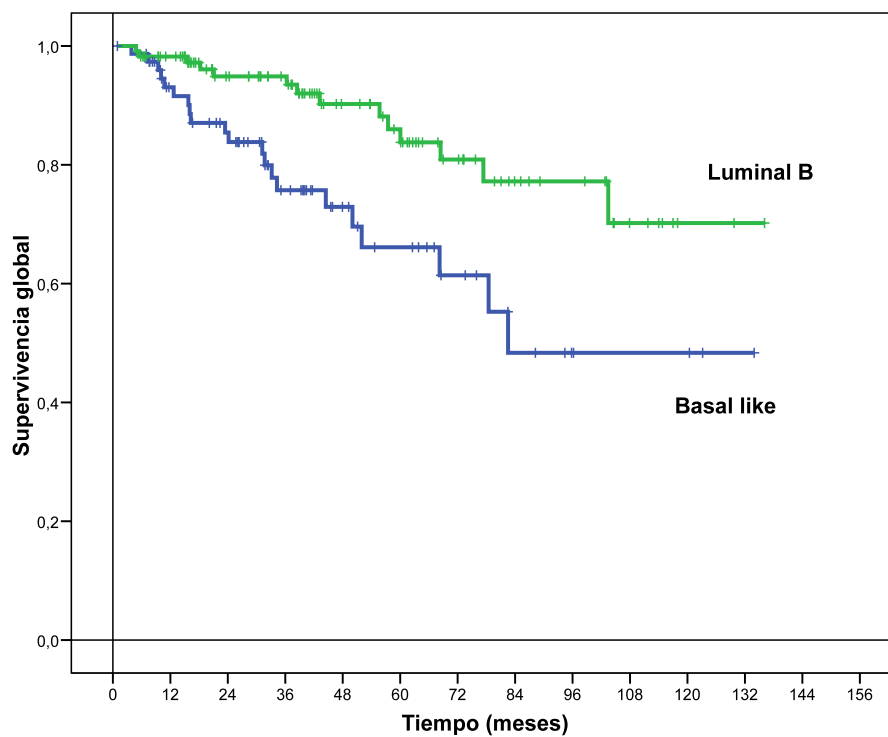


Figura 10.- Supervivencia global subtipos, Basal like vs Luminal B

6.5.3.- Supervivencia global subtipos, Basal Like vs HER2 enriquecido

Los resultados se exponen a continuación

SUPERVIVENCIA GLOBAL y subtipos, BASAL LIKE vs HER2 ENRIQUECIDO		
	Eventos	Porcentaje vivas
Basal Like	21	72,73%
HER2	20	66,1%

Tabla 39.- Supervivencia global por subtipos: Basal Like vs HER2 enriquecido

Estudio estadístico comparativo. Log Rank (Mantel-Cox), chi cuadrado, no **muestran diferencias significativas en supervivencia entre ambos subtipos. $P= 0.910$** (figura 11)

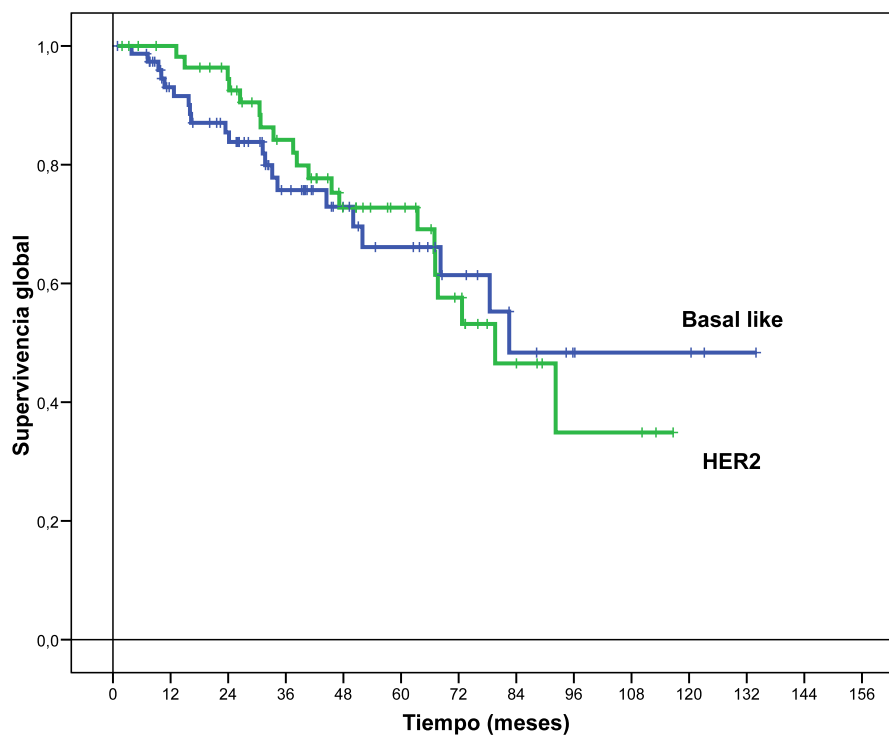


Figura 11.- Supervivencia global subtipos, Basal Like vs HER2 enriquecido

6.5.4.- Supervivencia global subtipos, Luminal A vs Luminal B

Los resultados se exponen a continuación

SUPERVIVENCIA GLOBAL y subtipos, LUMINAL A vs LUMINAL B		
	Eventos	Porcentaje vivas
Luminal A	41	92,8%
Luminal B	14	87,6%

Tabla 40.- Supervivencia global por subtipos: Luminal A vs Luminal B

Estudio estadístico comparativo. Log Rank (Mantel-Cox), chi cuadrado, **no muestran diferencias significativas en supervivencia. $P= 0.333$ (figura 12)**

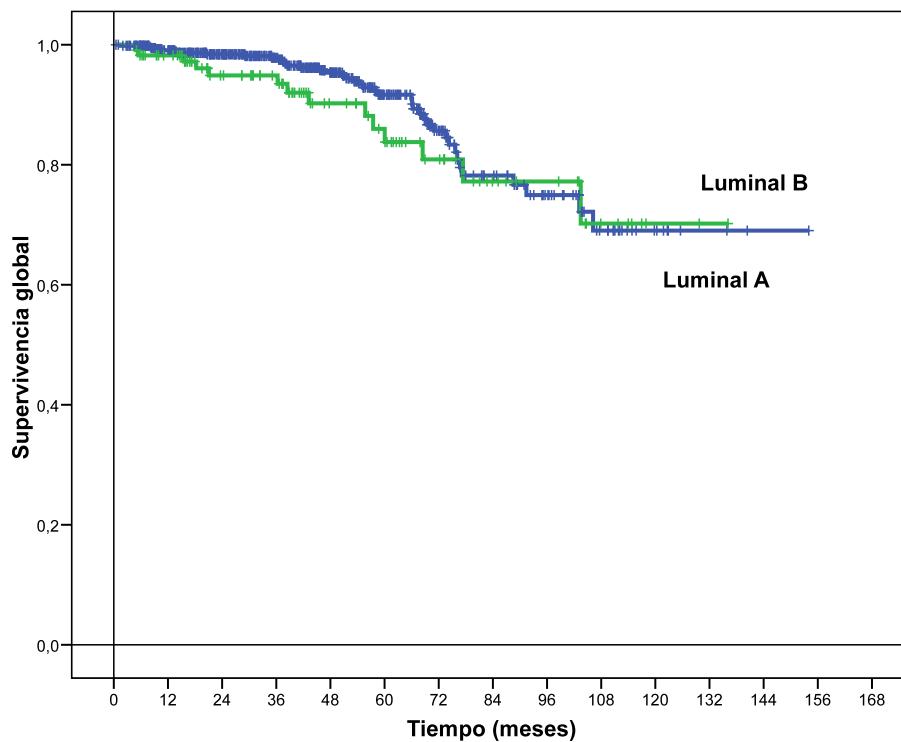


Figura 12.- Supervivencia global subtipos, Luminal A vs Luminal B

6.5.5.- Supervivencia global subtipos, Luminal A vs HER2 enriquecido

Los resultados se exponen a continuación

SUPERVIVENCIA GLOBAL y subtipos, LUMINAL A vs HER 2 ENRIQUECIDO		
	Eventos	Porcentaje vivas
Luminal A	41	92,8%
HER2 enriquecido	20	66,1%

Tabla 41.- Supervivencia global por subtipos: Luminal A vs HER2 enriquecido

Estudio estadístico comparativo, Log Rank (Mantel-Cox), chi cuadrado, **muestran diferencias significativas en supervivencia a favor del subtipo Luminal A. $P= 0.000$ (figura 13)**

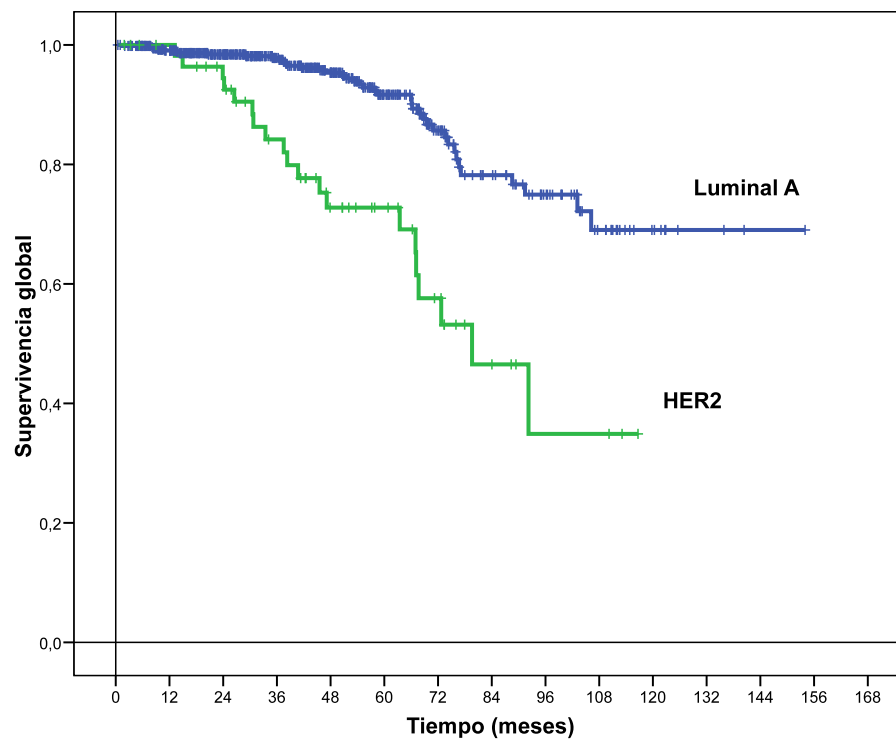


Figura 13.- Supervivencia global subtipos, Luminal A vs HER2 enriquecido

6.5.6.- Supervivencia global subtipos, Luminal B vs HER2 enriquecido

Los resultados se exponen a continuación:

SUPERVIVENCIA GLOBAL y subtipos, LUMINAL B vs HER2 ENRIQUECIDO		
	Eventos	Porcentaje vivas
Luminal B	14	87,6%
HER2	20	66,1%

Tabla 42.- Supervivencia global por subtipos: Luminal B vs HER2 enriquecido

Estudio estadístico comparativo. Log Rank (Mantel-Cox), chi cuadrado, **muestran diferencias significativas en supervivencia a favor del subtipo Luminal B. $P= 0.006$ (figura 14)**

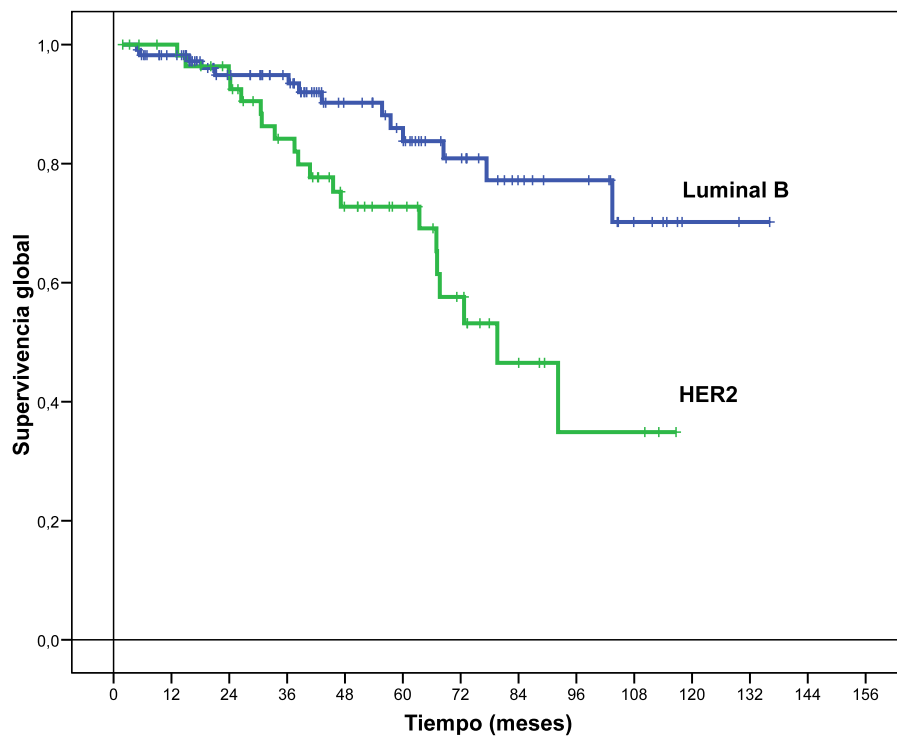


Figura 14.- Supervivencia global subtipos, Luminal B vs HER2 enriquecido

6.6.- SUPERVIVENCIA GLOBAL, ESTUDIO MULTIVARIABLE

Se ha realizado un análisis multivariable por el método regresión de Cox, de los factores pronósticos habitualmente consolidados en cáncer de mama, tamaño, afectación ganglionar y grado de diferenciación, junto a los subtipos intrínsecos. En el tamaño de la T hemos considerado solo 2 grupos los tumores iguales o mayores de 2 cm y los tumores menores de este tamaño, en relación a los ganglios hemos considerado también solo 2 grupos, según tuvieran o no afectación axilar, así mismo hicimos con el grado, agrupamos a las pacientes según tuvieran tumores moderadamente o bien diferenciados y los pobremente diferenciados en otro grupo. Sin embargo mantuvimos los 4 subtipos intrínsecos de forma independiente. Sus resultados se muestran en la tabla 43

		VARIABLES EN LA ECUACIÓN				
	Wald	gl	Sig	Exp(B)	95.0% IC para Exp(B) Inferior	Superior
Grado codificado	0.168	1	0.682	0.886	0.497	1.580
pT codificada	6.525	1	0.011	0.474	0.268	0.841
pN codificada	3186	1	0.074	0.636	0.387	1.045
Subtipos intrínsecos globales	23.326	3	0.000			
HER2 y Basal Like	0.532	1	0.466	1.266	0.672	2.383
HER2 y Luminal A	13.046	1	0.000	0.291	0.149	0.586
HER2 y Luminal B	7.441	1	0.006	0.347	0.162	0.742

Tabla 43.- Supervivencia global. Estudio multivariable

El análisis multivariable, muestra que son factores pronósticos independientes, para la supervivencia global, solo el tamaño de la T, $p = 0,011$ y los subtipos intrínsecos ($p = 0.000$)

7.- SUPERVIVENCIA LIBRE DE ENFERMEDAD

7.1.- SUPERVIVENCIA LIBRE DE ENFERMEDAD GRUPO COMPLETO

Con un seguimiento mediano de 40 meses, han recaído 147 pacientes, que representan el 81,9%. La S.L.E. actuarial a los 5 años se sitúa en el 75%. (figura 15)

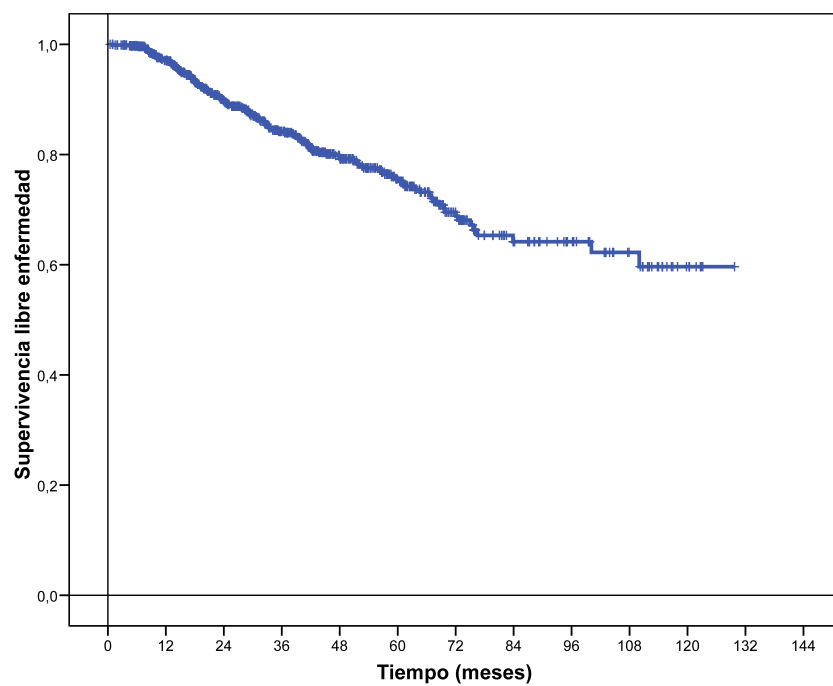


Figura 15.- Supervivencia libre de enfermedad, grupo total

7.2.- SUPERVIVENCIA LIBRE DE ENFERMEDAD SEGÚN EL TAMAÑO DEL TUMOR

Se estudia la supervivencia libre de enfermedad de las pacientes según tuvieran un tumor hasta 2 cm. o superior a ese tamaño. Las pacientes con tumores hasta 2 cm., eran 424 y han recaído 41, por tanto están vivas sin enfermedad el 90.3%. De las pacientes con tumores iguales o mayores de 2 cm., han recaído 106 de un total de 392, lo que representa el 72,8%.

Estudio estadístico comparativo, Log Rank (Mantel-Cox), chi cuadrado, **muestran diferencias significativas en supervivencia libre de enfermedad en el grupo de pacientes con tumores menores de 2 cm. $P= 0.000$ (figura 16)**

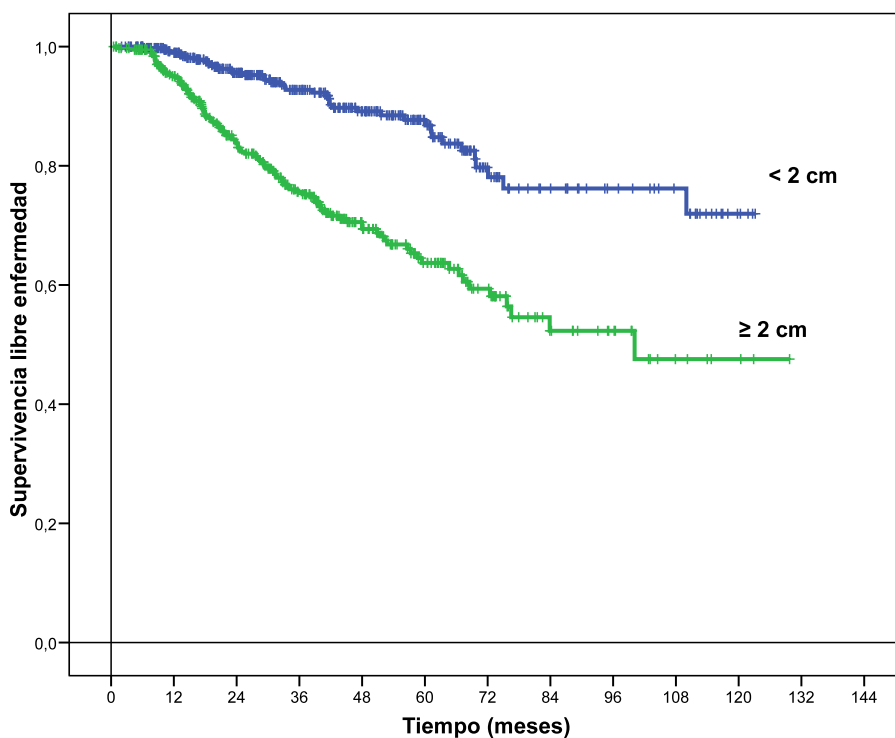


Figura 16.- Supervivencia libre de enfermedad. Tamaño del tumor

7.3.- SUPERVIVENCIA LIBRE DE ENFERMEDAD SEGÚN LA AFECTACIÓN GANGLIONAR

Se estudia la supervivencia libre de enfermedad de las pacientes según el estado axilar. Las pacientes con ganglios negativos, eran 462 y han recaído 51, por tanto están vivas sin enfermedad el 88,9%. De las pacientes con ganglios afectados han recaído 96 de un total de 354, lo que representa el 72,9%.

Estudio estadístico comparativo, Log Rank (Mantel-Cox), chi cuadrado, **muestran diferencias significativas en supervivencia a favor de las pacientes sin afectación axilar. $P= 0.000$ (figura 17)**

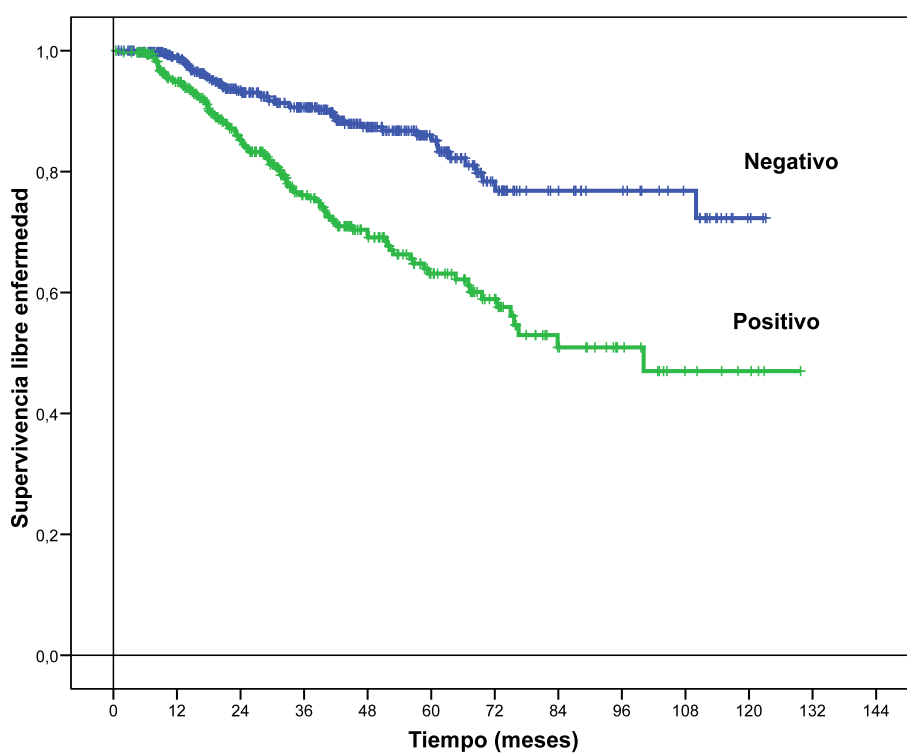


Figura 17.- Supervivencia libre de enfermedad. Afectación ganglionar

7.4.- SUPERVIVENCIA LIBRE DE ENFERMEDAD SEGÚN EL GRADO DE DIFERENCIACIÓN TUMORAL

Se estudia la supervivencia libre de enfermedad de las pacientes según el grado de diferenciación, dividiéndolas en dos grupos, las pacientes con tumores bien o moderadamente diferenciados, vs las pacientes con tumores pobremente diferenciados. Las pacientes del primer grupo eran 437 y han recaído 52, por tanto están vivas sin enfermedad el 88.10%. De las pacientes del grupo con tumores mas indiferenciados han recaído 71 de un total de 286, lo que representa el 75,17%. El grupo total tiene una supervivencia libre de enfermedad del 82,77%.

Estudio estadístico comparativo, Log Rank (Mantel-Cox), chi cuadrado, **muestran diferencias significativas en supervivencia a favor de las pacientes con tumores mejor diferenciados. $P= 0.000$** (figura 18)

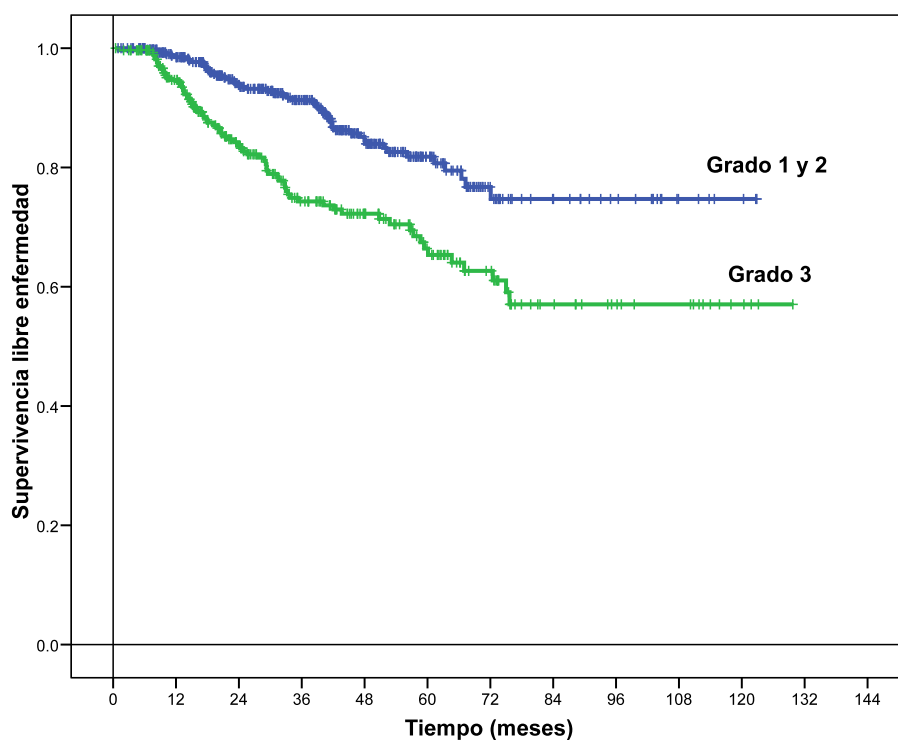


Figura 18.- Supervivencia libre de enfermedad- Grados histológicos

7.5.- SUPERVIVENCIA LIBRE DE ENFERMEDAD SEGÚN LOS SUBTIPOS INTRÍNSECOS

La supervivencia libre de enfermedad con una mediana de seguimiento de 40 meses se muestra en la tabla 44 y figura 19. Teniendo mejor supervivencia libre de enfermedad, el subtipo Luminal A (87,1%) y las pacientes con peor supervivencia libre de enfermedad fueron las del subtipo HER2 con un 61% de pacientes vivas. El estudio estadístico, Log Rank (Mantel-Cox), chi-cuadrado, **muestra diferencias significativas entre los diferentes subtipos. $P= 0.000$.**

Clasificación	Nº total	Nº eventos	Nº censurados	Porcentaje censurados
Basal Like	77	25	52	67,53%
Luminal A	567	73	494	87,13%
Luminal B	113	26	87	77%
HER2 enriquecido	59	23	36	61%
Global	816	147	669	81,99%

Tabla 44.- Supervivencia libre de enfermedad, según los subtipos intrínsecos

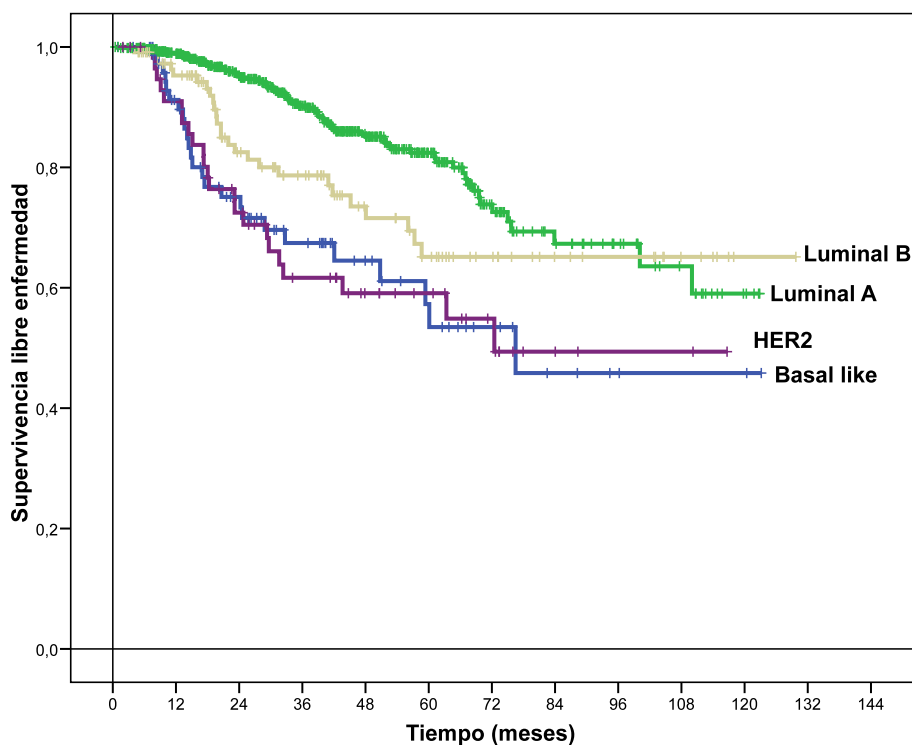


Figura 19.- Supervivencia libre de enfermedad. Subtipos intrínsecos

7.5.1.- Supervivencia libre de enfermedad, subtipos: Basal Like vs Luminal A

Los datos se especifican a continuación

SUPERVIVENCIA LIBRE DE ENFERMEDAD y subtipos, BASAL LIKE vs LUMINAL A		
	Eventos	Porcentaje vivas
Basal Like	25	67,53%
Luminal A	73	87,13%

Tabla 45.- S.L.E. por subtipos: Basal Like vs Luminal A

Estudio estadístico comparativo, Log Rank (Mantel-Cox), chi cuadrado, **muestran diferencias significativas en supervivencia libre de enfermedad a favor del subtipo Luminal A. $P=0.000$** (figura 20)

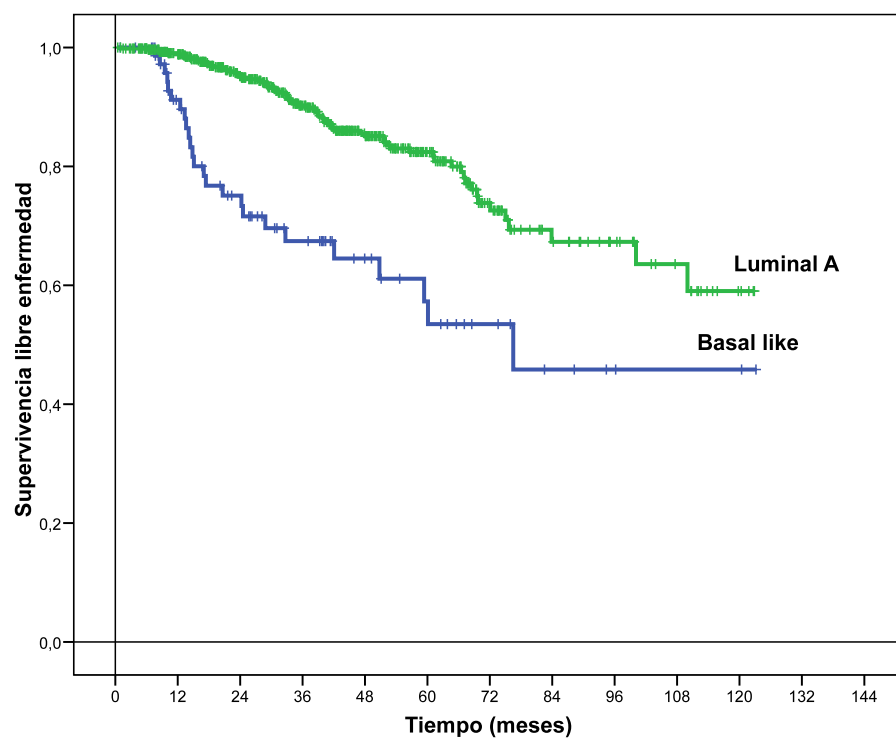


Figura 20.- Supervivencia libre de enfermedad, subtipos: Basal like vs Luminal A

7.5.2.- Supervivencia libre de enfermedad subtipos, Basal Like vs Luminal B

Los datos se especifican a continuación

SUPERVIVENCIA LIBRE DE ENFERMEDAD y subtipos, BASAL LIKE vs LUMINAL B		
	Eventos	Porcentaje vivas
Basal Like	25	67,53%
Luminal B	26	76,99%

Tabla 46.- S.L.E. por subtipos: Basal Like vs Luminal B

Estudio estadístico comparativo, Log Rank (Mantel-Cox), chi cuadrado, **muestran diferencias significativas en supervivencia libre de enfermedad a favor del subtipo Luminal B. $P= 0.0691$** (Figura 21)

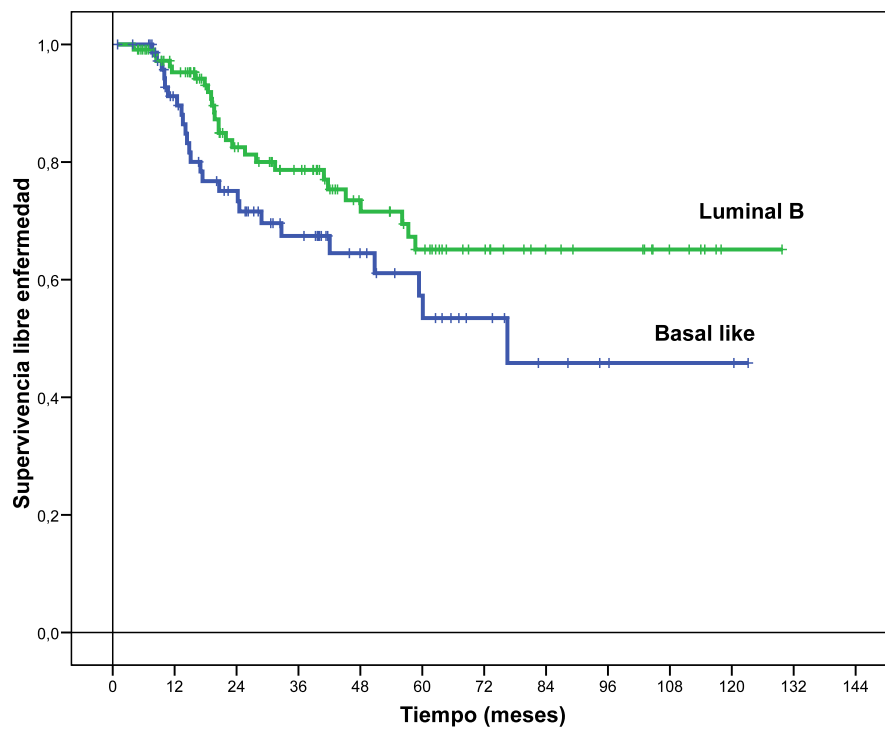


Figura 21.- Supervivencia libre de enfermedad subtipos, Basal Like vs Luminal B

7.5.3.- Supervivencia libre de enfermedad, subtipos Basal Like vs HER2 enriquecido

Los resultados se exponen a continuación

SUPERVIVENCIA LIBRE DE ENFERMEDAD y subtipos, BASAL LIKE vs HER2 ENRIQUECIDO		
	Eventos	Porcentaje vivas
Basal Like	25	67,53%
HER2	23	61%

Tabla 47.- S.L.E. por subtipos: Basal Like vs HER2 enriquecido

Estudio estadístico comparativo, Log Rank (Mantel-Cox), chi cuadrado, **no muestran diferencias significativas en supervivencia entre ambos subtipos. $P= 0.899$** (figura 22)

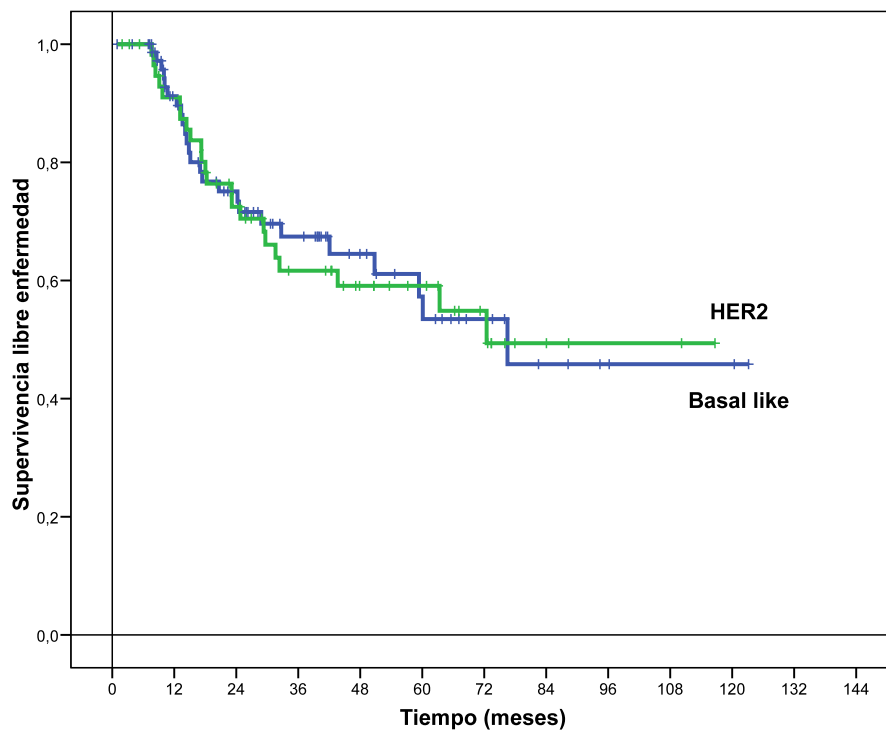


Figura 22.- Supervivencia libre de enfermedad, subtipos Basal Like vs HER2 enriquecido

7.5.4.- Supervivencia libre de enfermedad subtipos, Luminal A vs Luminal B

Los resultados se exponen a continuación

SUPERVIVENCIA LIBRE DE ENFERMEDAD y subtipos, LUMINAL A vs LUMINAL B		
	Eventos	Porcentaje vivas
Luminal A	73	87,13%
Luminal B	26	77%

Tabla 48.- S.L.E. por subtipos: Luminal A vs Luminal B

Estudio estadístico comparativo, Log Rank (Mantel-Cox), chi cuadrado, **muestran diferencias estadísticamente significativas en supervivencia libre de enfermedad a favor del subtipo Luminal B. P= 0.025 (figura 23)**

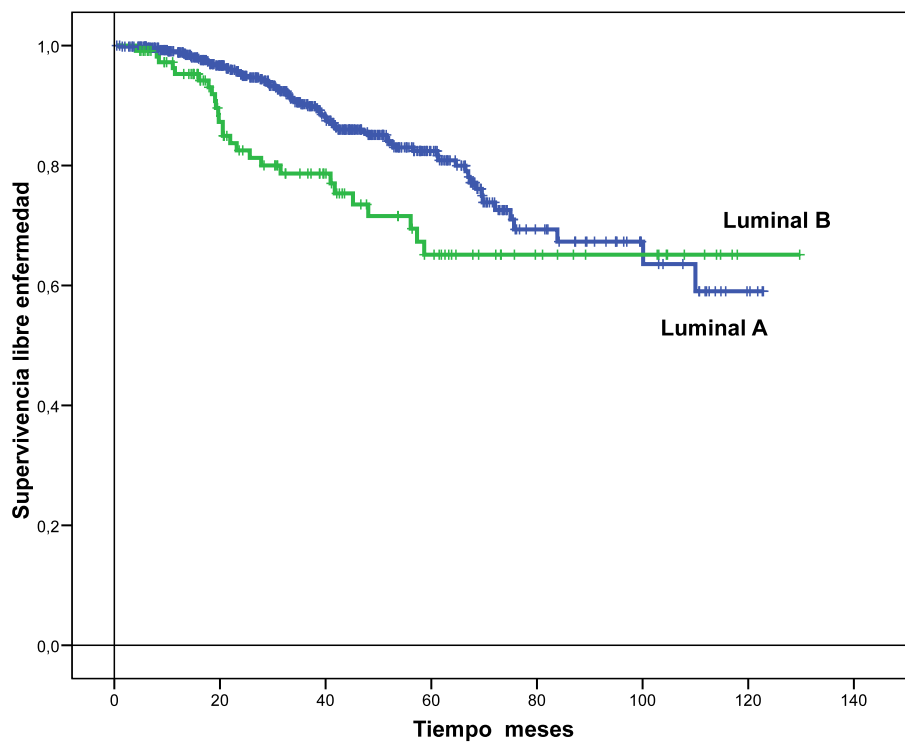


Figura 23.- Supervivencia libre de enfermedad subtipos, Luminal A vs Luminal B

7.5.5.- Supervivencia libre de enfermedad subtipos, Luminal A vs HER2 enriquecido

Los resultados se exponen a continuación

SUPERVIVENCIA LIBRE DE ENFERMEDAD y subtipos, LUMINAL A vs HER2 ENRIQUECIDO		
	Eventos	Porcentaje vivas
Luminal A	73	87,13%
HER2	23	61%

Tabla 49.- S.L.E. por subtipos: Luminal A vs HER2 enriquecido

Estudio estadístico comparativo, Log Rank (Mantel-Cox), chi cuadrado, **muestran diferencias significativas en supervivencia a favor del subtipo Luminal A. $P= 0.000$ (figura 24)**

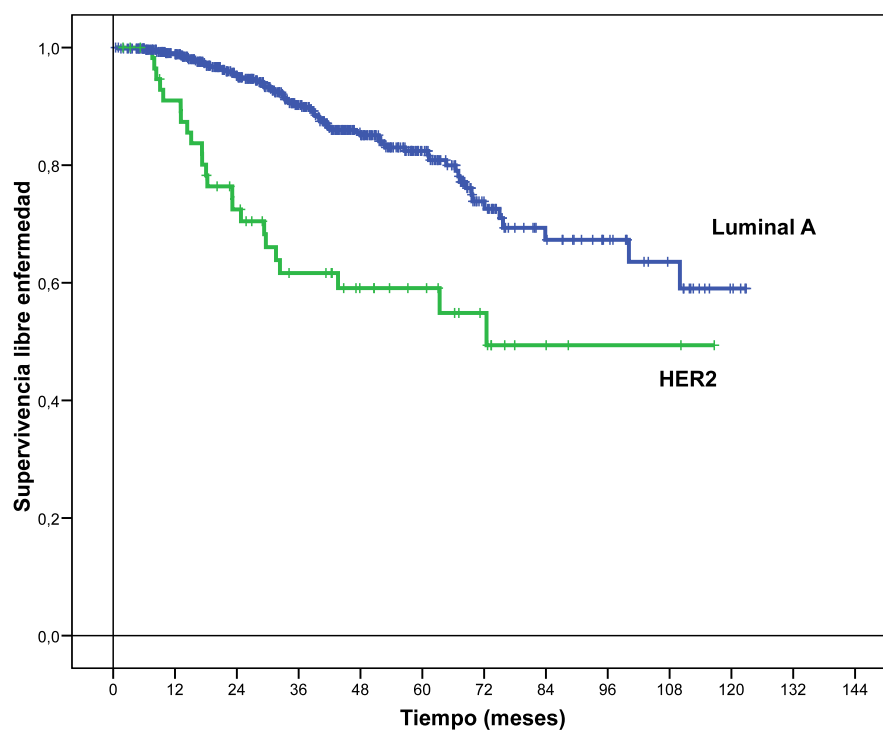


Figura 24.- Supervivencia libre de enfermedad subtipos, Luminal A vs HER2 enriquecido

7.5.6.- Supervivencia libre de enfermedad subtipos, Luminal B vs HER2

Los resultados se exponen a continuación

SUPERVIVENCIA LIBRE DE ENFERMEDAD y subtipos, LUMINAL B vs HER2 ENRIQUECIDO		
	Eventos	Porcentaje vivas
Luminal B	26	77%
HER2	23	61%

Tabla 50.- S.L.E. por subtipos: Luminal B vs HER2 enriquecido

Estudio estadístico comparativo, Log Rank (Mantel-Cox), chi cuadrado, **no muestran diferencias estadísticamente significativas en supervivencia libre de enfermedad entre ambos subtipos. $P= 0.066$** (figura 25)

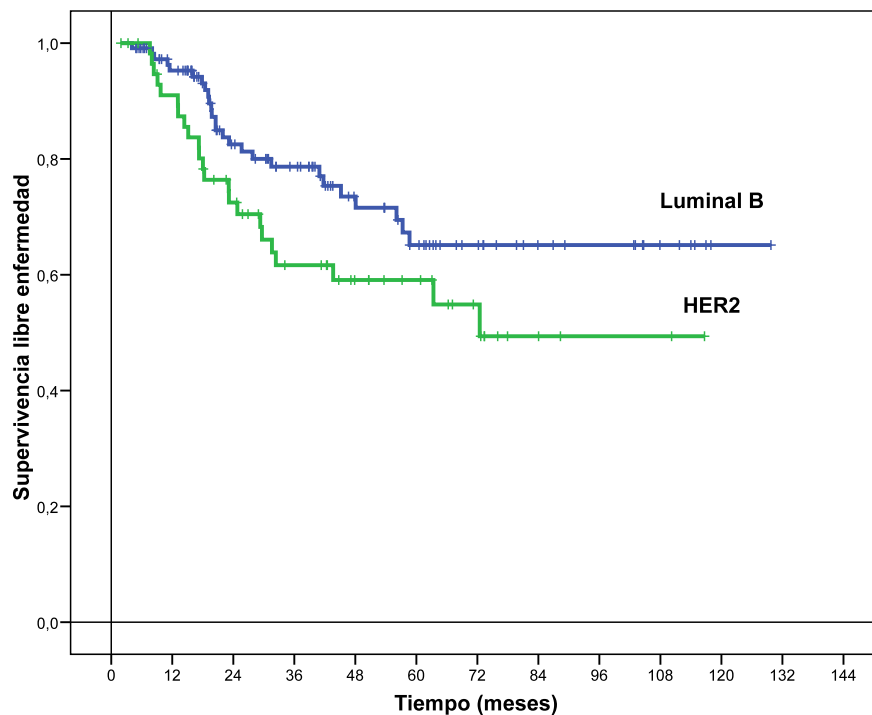


Figura 25.- Supervivencia libre de enfermedad subtipos, Luminal B vs HER2

7.6.- SUPERVIVENCIA LIBRE DE ENFERMEDAD. ESTUDIO MULTIVARIABLE

Se ha realizado un análisis multivariable según el método regresión logística de Cox, de los factores pronósticos habitualmente consolidados en cáncer de mama, tamaño, afectación ganglionar y grado de diferenciación, junto a los subtipos intrínsecos. En el tamaño de la T hemos considerado solo 2 grupos, los tumores iguales o mayores de 2 cm y los tumores menores de este tamaño, en relación a los ganglios hemos considerado también solo 2 grupos, según tuvieran o no afectación axilar, así mismo hicimos con el grado, agrupamos a las pacientes según tuvieran tumores moderadamente o bien diferenciados y los pobremente diferenciados en otro grupo. Sin embargo mantuvimos los 4 subtipos intrínsecos de forma independiente. Sus resultados se muestran en la tabla 51.

		VARIABLES EN LA ECUACIÓN				
	Wald	gl	Sig	Exp(B)	95.0% IC para Exp(B) Inferior	Superior
Grado codificado	0.295	1	0.587	0.886	0.573	1.371
pT codificada	8.182	1	0.004	0.536	0.349	0.822
pN codificada	12.998	1	0.000	0.488	0.331	0.721
Subtipos intrínsecos globales	18.645	3	0.000			
HER2 y Basal Like	0.178	1	0.673	1.135	0.631	2.040
HER2 y Luminal A	11.007	001	0.001	0.386	0.220	0.677
HER2 y Luminal B	4.334	1	0.037	0.517	0.278	0.926

Tabla 51.- Supervivencia libre de enfermedad. Estudio multivariable

El tamaño de la T, la afectación ganglionar y los subtipos intrínsecos son factores pronósticos de supervivencia independientes, con una significación de $p=0.004$, para la T, $p=0.000$, para la N y $p=0.000$, para los subtipos intrínsecos.

8.- TIPO DE RECAÍDAS

Hemos considerado las recaídas en dos grandes grupos, viscerales y no viscerales, estas últimas engloban a las pacientes con recaídas óseas, dérmicas, nodulares pulmonares, ganglionares y/o locales.

No han recaído 669 pacientes y sí lo han hecho 147. La distribución por grupos (viscerales y no viscerales) se representan en la tabla 52.

Tipo de recaída	Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje acumulado
No recaída	669	82,0	82,0
Recaída no visceral	91	11,2	93,1
Recaída visceral	56	6,9	100,0
Total	816	100	

Tabla 52.- Tipo de metástasis a la recaída (visceral vs no visceral)

8.1.- TIPO DE RECAÍDAS, SEGÚN EL TAMAÑO TUMORAL

Hemos estudiado el tipo de recaídas, dependiendo del tamaño tumoral, para ello hemos dividido a las pacientes en 2 grupos, las que tenían tumores menores de 2 cm. y el resto. A continuación se exponen los resultados.

TIPO DE RECAÍDAS, SEGÚN TAMAÑO TUMORAL		
Tipo de recaída	Visceral	No visceral
T. 0	10 (24,4%)	31 (75,6%)
T. 1	23	60%

Tabla 53.- Tipo de recaídas, según tamaño tumoral

El análisis estadístico mediante el método de chi cuadrado, muestra diferencias significativas entre los dos grupos de T., **los tumores de menor tamaño, tienen un menor porcentaje de recaídas viscerales que las pacientes con tumores mayores. P= 0.038.**

8.2.- TIPO DE RECAÍDAS SEGÚN EL GRADO DE DIFERENCIACIÓN TUMORAL

Hemos estudiado el tipo de recaídas, dependiendo del grado de diferenciación tumoral, para ello hemos dividido a las pacientes en 2 grupos, las que tenían tumores con grado I y II y otro grupo con las que tenían tumores grado III. A continuación se exponen los resultados.

TIPO DE RECAÍDAS, SEGÚN GRADO DE DIFERENCIACIÓN TUMORAL		
Tipo de recaída	Visceral	No visceral
G. 0	11 (20,75%)	42 (79,24%)
G. 1	36 (50,7%)	35 (42,29%)

Tabla 54.- Tipo de recaídas, según grado de diferenciación tumoral

El análisis estadístico mediante el método de chi cuadrado, **muestra diferencias significativas entre los dos grupos de pacientes divididas por el grado de diferenciación. $P= 0.000$.**

8.3.- TIPO DE RECAÍDAS SEGÚN LA AFECTACIÓN GANGLIONAR

Hemos estudiado el tipo de recaídas, dependiendo de la afectación ganglionar. Para ello hemos dividido a las pacientes en 2 grupos, las que no tenían afectación ganglionar regional y las que si la tenían. A continuación se exponen los resultados.

TIPO DE RECAÍDAS, SEGÚN AFECTACIÓN GANGLIONAR		
Tipo de recaída	Visceral	No visceral
N. 0	16 (31,37%)	35 (68,62%)
N. 1	40 (41,7%)	56 (58,3%)

Tabla 55.- Tipo de recaídas, según afectación ganglionar

El análisis estadístico mediante el método de chi cuadrado, **no muestra diferencias significativas entre los dos grupos de afectación ganglionar. $P= 0.296$**

8.4.- TIPOS DE RECAÍDA SEGÚN LOS SUBTIPOS INTRÍNSECOS

De forma global los diferentes subtipos de Perou, tienen distintos patrones de recaída, así los Basal LiKe, tienen mas recaídas de tipo visceral y los Luminal A de tipo no visceral. Tabla 20

El estudio estadístico mediante chi cuadrado de todos los subtipos entre si, teniendo en cuenta el tipo de recaída, **rozo la significación estadística. $P= 0.062$** . Estudiaremos esta variable comparando ente si los diferentes subtipos.

		SUBTIPOS INTRÍNSECOS				
Tipo recaída		Basal Like	HER2	Luminal A	Luminal B	Total
No visceral	Nº	11	13	53	14	91
	%	44	56,5	72,6	53,85	61,2
visceral	Nº	14	10	20	12	56
	%	56	43,5	27,4	46,15	38,8
Total	Nº	25	23	73	26	147
	%	100	100	100	100	100

Tabla 56.- Tipo de metástasis a la recaída (visceral vs no visceral). Subtipos intrínsecos

8.4.1.- Tipo de recaída y subtipos, Basal Like vs Luminal A

Los datos se especifican a continuación.

TIPO DE RECAÍDAS y subtipos BASAL LIKE vs LUMINAL A		
Tipo de recaída	Visceral	No visceral
Basal Like	14 (56%)	11 (44%)
Luminal A	20 (27,39%)	53 (72,61%)

Tabla 57.- Tipo de recaídas y subtipos: Basal Like vs Luminal A

El estudio estadístico mediante el método de chi cuadrado, **mostró que las pacientes del subtipo Basal Like, tenían mas posibilidades de hacer metástasis viscerales que la pacientes del subtipo Luminal A, y estas mas posibilidades de hacer recaídas no viscerales que el subtipo Basal Like. P= 0,016**

8.4.2.- Tipo de recaída según los subtipos, Basal Like vs Luminal B

Los datos se especifican a continuación

TIPO DE RECAÍDAS y subtipos BASAL LIKE vs LUMINAL B		
Tipo de recaída	Visceral	No visceral
Basal Like	14 (56%)	11 (44%)
Luminal B	12 (46,2%)	14 (53,8%)

Tabla 58.- Tipo de recaídas y subtipos: Basal Like vs Luminal B

El estudio estadístico mediante el método de chi cuadrado, **no mostró que las pacientes del subtipo Basal Like, respecto a las del subtipo Luminal B, tuvieron diferente patrón de recaída.** $P = 0,579$.

8.4.3.- Tipo de recaída según los subtipos, Basal Like vs HER2 enriquecido

Los datos se especifican a continuación:

TIPO DE RECAÍDAS y subtipos BASAL LIKE vs HER 2 ENRIQUECIDO		
Tipo de recaída	Visceral	No visceral
Basal Like	14 (56%)	11 (44%)
HER2	10 (43,5%)	13 (56,5%)

Tabla 59.- Tipo de recaídas y subtipos: Basal Like vs HER2 enriquecido

El estudio estadístico mediante el método de chi cuadrado, **no mostró que las pacientes del subtipo Basal Like respecto a las del subtipo HER2, tuvieron diferente patrón de recaída.** $P = 0,564$.

8.4.4.- Tipo de recaída según los subtipos, Luminal A vs Luminal B

Los datos se especifican a continuación:

TIPO DE RECAÍDAS y subtipos LUMINAL A vs LUMINAL B		
Tipo de recaída	Visceral	No visceral
Luminal A	20 (27,39%)	53 (72,61%)
Luminal B	12 (46,2%)	14 (53,8%)

Tabla 60.- Tipo de recaídas y subtipos: Luminal A vs Luminal B

El estudio estadístico mediante el método de chi cuadrado, **no mostró que las pacientes del subtipo Luminal A respecto a las del subtipo Luminal B, tuvieran diferente patrón de recaída.** $P = 0,145$.

8.4.5.- Tipo de recaída según los subtipos, Luminal A vs HER2 enriquecido

Los datos se especifican a continuación:

TIPO DE RECAÍDAS y subtipos LUMINAL A vs HER2 ENRIQUECIDO		
Tipo de recaída	Visceral	No visceral
Luminal A	20 (27,39%)	53 (72,61%)
HER2	10 (43,5%)	13 (56,5%)

Tabla 61.- Tipo de recaídas y subtipos: Luminal A vs HER2 enriquecido

El estudio estadístico mediante el método de chi cuadrado, **no mostró que las pacientes del subtipo Luminal A respecto a las del subtipo HER2, tuvieran diferente patrón de recaída. $P= 0,296$.**

8.4.6.- Tipo de recaída según los subtipos, Luminal B vs HER2 enriquecido

Los datos se especifican a continuación:

TIPO DE RECAÍDAS y subtipos LUMINAL B vs HER2 ENRIQUECIDO		
Tipo de recaída	Visceral	No visceral
Luminal B	12846,2%)	14 (58,3%)
HER2	10 (43,5%)	13 (56,5%)

Tabla 62.- Tipo de recaídas y subtipos: Luminal B vs HER2 enriquecido

El estudio estadístico mediante el método de chi cuadrado, **no mostró que las pacientes del subtipo Basal Like respecto a las del subtipo Luminal B, tuvieran diferente patrón de recaída. $P= 1$**



DISCUSIÓN

Como ya hemos dicho anteriormente, el cáncer de mama es el tumor más frecuente entre las mujeres occidentales y su incidencia continua aumentando en todo el mundo; sin embargo, los programas de detección precoz junto con los avances diagnósticos y terapéuticos se han traducido en un incremento de la supervivencia que se sitúa por encima del 80% a 5 años (**Berry et al. 2005, Kamangar et al. 2006 y Verdecchia et al. 2009**).

Hasta hace poco tiempo el cáncer de mama se clasificaba únicamente en función de la morfología celular, de la determinación por inmunohistoquímica (IHC) de receptores de estrógeno (RE), receptores de progesterona (RP) y HER2 y de parámetros clínicos, como el tamaño tumoral, la afectación de ganglios linfáticos y la presencia de metástasis. En base a estos datos, se obtenían grupos con implicaciones pronósticas y terapéutica; si bien se observaba que pacientes incluidas dentro del mismo grupo y tratadas de igual modo, presentaban distinta evolución, sin que pudieran establecerse los motivos de tan diferente comportamiento (**Contesso et al. 1990, Mouriessse et al. 1999, Fitzgibbons et al. 2000, Mc Shane et al. 2005**).

Los estudios de Perou (**Perou et al. 2000**) utilizando microarrays de DNA concluyeron que existía una gran diferencia de expresión génica entre tumores de mama, dividiéndolos en 4 subtipos. Posteriormente, mediante estudios más amplios del mismo grupo los modifican levemente y establecen los 4 tipos que se conocen actualmente y se denominan como Luminales A y B, grupo HER2 enriquecido y Basal Like, reflejando que estos distintos tipos presentaban diferentes implicaciones pronósticas (**Sorlie et al. 2003**).

Los distintas extrapolaciones de la expresión génica a los datos de inmunohistoquímica disponibles en la clínica habitual, han hecho que los diferentes subtipos moleculares de Perou o subtipos intrínsecos de cáncer de mama, sean muy heterogéneos y que los datos sean dispares según las formas de agruparlos (**Callagy et al. 2003, Nielsen et al. 2004, Carey et al. 2006, Oh et al. 2006, Cheang et al. 2009**).

Nosotros hemos estudiado a las pacientes con cáncer de mama locorregional tratadas y seguidas en el Hospital Universitario de Salamanca desde el año 1998 (1-1-1998) al 2007 (31-12-2007), para comprobar la relación entre los factores pronósticos habituales de estas pacientes y los subtipos moleculares identificados por inmunohistoquímica, siguiendo un procedimiento fácilmente reproducible en todos los hospitales, el propuesto por Carey en el año 2006 (**Carey et al. 2006**).

Hemos recogido un total de 816 pacientes que cumplían todos los criterios que se establecieron y que ya hemos expuesto en material y método. Como hemos reflejado anteriormente, los objetivos del estudio han sido identificar en nuestra población los subtipos intrínsecos moleculares utilizando métodos de IHC y correlacionarlos con los datos anatomoclínicos, la supervivencia libre de enfermedad, la supervivencia global y el tipo de recaída de las pacientes.

La edad media de las pacientes fue de 58.9 años, de las cuales 65.9% eran postmenopáusicas, siendo la edad media de la menopausia de 49.92 años y la edad de la menarquía de 13.55 años. El 18.2% de las pacientes de la muestra era nulípara y la media de número de hijos por mujer de forma global fue de 2.05. La edad media del primer parto fue de 25.76 años y el 79% las pacientes dieron de

mamar a sus hijos. Tenían antecedentes de cáncer de mama en familiares de 1º y 2º grado el 29.72% de las pacientes que tenían consignado este dato. Estos datos epidemiológicos son similares a la mayoría de los estudios publicados en población caucásica (**Chei et al. 2000, Kelsey et al. 1993, Ewertz et al. 1990, Martin et al. 2006, Altekruze et al. 2010**)

En cuanto a la distribución según el tipo anatomopatológico, eran ductales el 79.3% y solo el 8% lobulillares. Teniendo en cuenta el tamaño del tumor, eran menores de 2 cm. el 52% y de tamaño igual o superior el 48%. Las pacientes sin afectación ganglionar representaban el 56.6% y tenían ganglios afectados el 43.4% de la muestra. El grado histológico tumoral bajo o moderado fue descrito en el 69,4% de las pacientes y el alto grado en el 39,6%. Estos datos, al igual que los epidemiológicos, son similares a los que se describe en la mayoría de los estudios españoles e internacionales (**Martin et al. 2006, Altekruze et al. 2010**).

En nuestra muestra los subtipos intrínsecos de Perou, siguiendo los criterios inmunohistoquímicos que hemos referido en material y método, tenían la siguiente distribución:

Tumores subtipo Basal-Like: 9.4%, tumores subtipo HER2 enriquecido: 7,2%, tumores subtipo Luminal A: 69.5% y tumores subtipo Luminal B: 13.8%.

Nuestros datos, con alguna pequeña variación son similares a la mayoría de los grandes estudios en pacientes sin seleccionar, (**Blows et al. 2010, Cheang et al. 2009, Bosch et al. 2009, Del Casar et al. 2008, Bhargava et al. 2010, Millar et al. 2009**), en los cuales los tumores luminales representan más del 60% de la muestra, seguidos de los Basal-Like y los menos frecuentes son los del subtipo HER2 amplificado. El problema, como ya comentamos, depende de la división de los subtipos luminales según los distintos criterios empleados.

En los estudios de Blows (**Blows et al. 2010**) y de Bosch (**Bosch et al. 2009**), que utilizan criterios parecidos a los nuestros, los subtipos Luminal B representan un 7% en el primero y el 9.6% en el segundo, inferiores a nuestros datos que representan el 13.9%, mientras que en el de Millar (**Millar et al. 2009**) no llegan al 5%. De los estudios referidos solo el de Bhargava (**Bhargava 2010**), tiene un grupo de tumores Luminal B superior al 20%, aunque los criterios utilizados por este grupo eran en relación a los niveles de receptores hormonales; sin embargo cuando clasificaba a los luminales según la positividad de HER2 como en nuestra serie estos representaban el 11%. Es posible que muchos tumores Luminal B en nuestro estudio tengan un porcentaje de receptores hormonales altos y bajo grado histológico, por ello quizás la clasificación que mejor diferencia ambos subtipos sean las de Cheang (**Cheang et al. 2009**) y de Bhargava (**Bhargava et al. 2010**) que consideran a los Luminales A y B por niveles de receptores y diferenciación y a los que tienen HER2 amplificado y receptores hormonales positivos como un subgrupo independiente dentro de los Luminales, pero es posible que no estemos clasificando a las pacientes según los subtipos moleculares intrínsecos de Perou, si no haciendo nuevos subtipos, que no sabemos si tienen una correlación molecular con los descritos

La proporción de subtipos HER2 amplificado en los grandes estudios sin selección previa de pacientes (**Blows et al. 2010, Bosch et al. 2009, del Casar et al. 2008, Bhargava et al. 2010, Millar et al. 2009**)

van desde 2,6% en el estudio de Millar (**Millar et al. 2009**) al 21,6% en el de Del Casar (**Del Casar et al. 2008**), ambos en población caucasiana. En nuestro estudio representan el 7.2%, cifra muy similar a la del estudio de Blows (**Blows et al. 2010**), que es del 6%, en una población de 10.000 pacientes.

Por último, los subtipo Basal Like representan en el estudio de Blows (**Blows et al. 2010**) el 16%, en el estudio de Bosch (**Bosch et al. 2009**) el 14%, en la serie de Carey (**Carey et al. 2006**), cuando solo estudia población caucasiana, representan el 16% y en el estudio de Del Casar (**Del Casar et al. 2008**) en población española llega al 22,6%; en el estudio de O'Brien (**O'Brien et al. 2010**), en población afroamericana, el subtipo Basal Like representa el 22%; sin embargo en nuestro estudio este subtipo solo representan el 9.4%, teniendo en cuenta que se consideraron Basal Like a todas las pacientes triple negativo. No tenemos explicación a esta discordancia, que posiblemente esté condicionada por los métodos de inmunohistoquímica, ya que tenemos un número importante de pacientes con solo positividad de una sola + en los receptores hormonales, y quizás dependiendo de la sensibilidad del método, en algún caso se podrían considerar negativas para receptores y entrar en este subtipo.

En nuestro estudio, cuando valoramos las variables demográficas en relación a los subtipos intrínsecos, no se observaron diferencias de edad entre los distintos subtipos ($P=0.442$), dato que difiere de la mayoría de los autores, donde las pacientes con subtipo Luminal A son de más edad (**Bosch et al. 2009, del Casar et al. 2008, Bhargava et al. 2010, Hugh et al. 2009**). Tampoco hemos encontrado diferencias entre los subtipos en relación a la situación menstrual ($P=0.893$), otro evento que en la mayoría de los estudios refieren como hecho diferencial, señalando un porcentaje superior de pacientes premenopáusicas en los subtipos basales y de postmenopáusicas en los subtipos Luminal A (**Bosch et al. 2009, del Casar et al. 2008, Carey et al. 2006, Hugh et al. 2009, Ihemelandu et al. 2007**). Otros datos demográficos como la edad de la menarquia, edad de la menopausia, edad del primer parto, así como la lactancia a los hijos, no han mostrado diferencias en nuestro estudio entre los distintos subtipos. Estos datos no los hemos encontrado referidos en otros estudios. Por último en relación a los antecedentes familiares oncológicos no existen diferencias entre los diferentes subtipos, pero extraña mas que no los haya tampoco en relación a los antecedentes familiares con cáncer de mama, pues en algunas series se comprobado que el cáncer de mama hereditario por mutación del gen BRCA 1 su subtipo mas frecuente es el Basal Like, y aunque esta serie es de población general, podría encontrarse una tendencia en ese sentido (**Sorlei et al. 2003, Millikan et al. 2008**).

En relación a las características del tumor hemos estudiado el tipo anatomopatológico, el tamaño de la T, la afectación ganglionar, el grado histológico y su distribución en los diferentes subtipos moleculares, obteniendo los siguientes resultados.

El tipo histopatológico más frecuente, como ya hemos descrito anteriormente fue el ductal, seguido del lobulillar, cuando los estudiamos por subtipos, los subtipos HER2 enriquecido y Basal Like prácticamente no tenían tumores lobulillares. Hay muy pocos estudios que analicen este dato, solo lo hemos encontrado referido por Liedtke (**Liedtke et al. 2008**) y en su estudio no encontró diferencias significativas. Queremos resaltar que un 5% de las pacientes del subtipo HER2 enriquecido padecían

tumores inflamatorios, dato que concuerda con otros estudios de tumores con HER2 amplificado (Dawood et al. 2010).

En relación al tamaño de la T, nuestros datos muestran que el subtipo Luminal A tiene una proporción significativamente mayor de tumores pequeños (menores de 2 cm.) que el resto de subtipos (Basal Like, Luminal B y HER2 amplificado), no existiendo diferencias significativas entre los otros grupos. Estos datos coinciden con los de Bosch (Bosch et al. 2009) y Blows (Blows et al. 2010); sin embargo otro estudio importante como es el de Bhargava (Bhargava et al. 2010) no encontró diferencias en el tamaño. Los trabajos de Dent (Dent et al. 2007), que estudia pacientes con tumores Basal Like respecto del resto de grupos, encuentra que estas tienen tumores mayores que el resto, pero no diferencia entre los otros tres subtipos; sin embargo Liedtke (Liedtke et al. 2008), con una división similar (Basal Like comparado con el resto) no encuentra diferencias.

En relación a la afectación ganglionar, en nuestra muestra sorprendentemente, pues se le considera mas agresivo, el subtipo con menor afectación axilar fue el Basal Like, en el que aparece un 61% de pacientes sin afectación de ganglios, seguido del Luminal A con el 58.9%, el Luminal B con el 48.7% y en el subtipo HER2 amplificado sólo son N0, el 44%. Sin embargo solo existen diferencias significativas entre Luminal A y Luminal B y entre el subtipo HER2 enriquecido y Luminal A. Estos datos coinciden con la literatura de forma parcial al encontrar menor afectación axilar en el Luminal A respecto de HER2 amplificado y Luminal B (Blows et al. 2010), pero no así la baja afectación axilar de los Basal Like, pues Dent (Dent et al. 2007) encuentra que este subtipo es el que más afectación ganglionar tiene. Sin embargo, ni Liedtke (Liedtke et al. 2008), ni Bosch (Bosch et al. 2009) encuentran diferencias entre los distintos subtipos.

En nuestro estudio, el análisis del grado histológico mostró que los tumores con subtipos HER2 amplificado, tenían un 89,8% de tumores de alto grado, los Basal Like el 78,6%, los Luminal B el 55,8% y los Luminal A el 25.1%. Estadísticamente, los subtipos Luminal A muestran diferencias significativas con todos los otros subtipos, así como el subtipo Luminal B respecto de los otros dos. No hay diferencias entre los subtipos Basal Like y HER2 amplificado. En los estudios de otros autores (Blows et al. 2010, Bhargava et al. 2010, Bosch et al. 2009, Dent et al. 2007, Liedtke et al. 2008), los tumores mas indiferenciados son los subtipos Basal Like, seguidos de los subtipos HER2 amplificado. Estos datos son similares a nuestro estudio, aunque en el nuestro son los del subtipo HER2 amplificado los que son mas indiferenciados, pero seguidos de cerca por los Basal Like, el subtipo Luminal B está en una situación intermedia entre estos dos últimos y los Luminal A. En nuestra clasificación por IHC, como ya hemos referido, la diferencia entre Luminal A y B la marcaba exclusivamente la presencia de HER 2 amplificado, y aunque no hemos tenido en cuenta el grado de diferenciación, como se discute en otros estudios (Sorlie et al. 2003, Sotiriou et al. 2009, Bhargava et al. 2008, Bhargava et al. 2010) si hay una gran diferencia del grado entre los dos subtipos muy marcada (55,8% de tumores pobremente diferenciados entre los luminal A y 25,1 % entre los luminal B).

El interés en clasificar a los cánceres de mama por subtipos moleculares, fue por la posible correspondencia de estos con la supervivencia libre de recurrencia y por ende con la supervivencia global, los primeros datos en este sentido fueron publicados por Sorlie (**Sorlie et al. 2001**).

En nuestro estudio, de la muestra total de pacientes, con una mediana de seguimiento de 40 meses, están vivas el 88,2%, y la supervivencia estimada por el método de Kaplan Meyer a los 5 años es discretamente superior al 85% cifras muy similares a la mayoría de los estudios europeos y americanos. (**Berry et al. 2005, Kamamgar et al. 2006, Coleman et al. 2010, Rosso et al. 2010**).

También hemos estudiado la supervivencia según el tamaño tumoral, dividiendo este en tumores menores 2 cm. o iguales o superiores, mostrando mejor supervivencia las pacientes con tumores pequeños (95% vs 80,8%); así mismo la afectación o no de los ganglios regionales también mostró diferencias significativas favorables a las pacientes sin afectación axilar (92,6% vs 82,5%). Por último analizamos el grado, mostrando mejor supervivencia las pacientes con tumores mejor diferenciados (93,82% vs 81,47%), factores pronósticos ya descritos de forma clásica en la literatura (**Fisher et al. 1993, Carter et al. 1989, Sivridis et al. 2006, Michaelson et al. 2009, Michael et al. 2003, Arrigada et al 2002, Elston et al. 1991, Chen et al. 2009**).

Cuando analizamos este dato teniendo en cuenta los subtipos intrínsecos, nuestros resultados muestran que las pacientes con tumores subtipo Luminal A tienen una supervivencia a 40 meses del 92,8%, las que tienen un subtipo luminal B están vivas el 87,6%, las pacientes con subtipo Basal Like viven, en el mismo período de seguimiento, el 72,4% y por último las pacientes con HER2 amplificado solo el 66,1%. Cuando estudiamos si existen diferencias significativas entre los distintos grupos, hemos encontrado que los subtipos Luminal A, tienen mejor supervivencia ($p=0.000$) que los subtipos Basal Like y HER2 amplificado y no tienen diferencias con los subtipos Luminal B. Los subtipos Luminal B tienen mejor supervivencia ($P=0,006$ y $p=0,003$) que los subtipos HER2 amplificado y Basal Like respectivamente. No hay diferencias entre los subtipos basales y HER2 amplificado. Por tanto son los subtipos Luminales los que tienen mejor supervivencia.

Aunque los distintos estudios tienen selección de pacientes muy diferentes, en términos generales, nuestros datos coinciden con la mayoría, Blows (**Blows et al. 2010**), Bosch (**Bosch et al. 2009**), Del Casar (**Del Casar et al. 2008**), Hugh (**Hugh et al. 2009**), Cheang (**Cheang et al. 2009**), Dent (**Dent et al. 2007**), Carey (**Carey et al. 2006**), Ihemelandu (**Ihemelandu et al. 2007**), Parker (**Parker et al. 2009**), O'Brien (**O'Brien et al. 2010**), Millar (**Millar et al. 2009**). Las pacientes con tumores Luminal A son las que tienen mejor supervivencia y las que la tienen peor son las pacientes con subtipos Basal Like y HER2 amplificado. Comentario aparte merece el subtipo Luminal B, que en casi todos los estudios muestra un pronóstico intermedio entre los Luminal A y los otros dos subtipos. En nuestra serie, con un seguimiento menor que en la mayoría de los estudios, los luminal B se asemejan más a los Luminal A que a los otros dos subtipos, aunque en nuestro trabajo no hemos tenido en cuenta el nivel de receptores estrogénicos ni el grado para subdividir a los luminales, solo la amplificación o no de HER2. En principio esto podría

significar que para el pronóstico son más importantes los receptores que la amplificación de HER2 en relación a la supervivencia a corto plazo, pues el seguimiento aun es escaso.

El análisis multivariable mostró que los subtipos intrínsecos de Perou son factor pronóstico independiente en relación a la supervivencia, lo mismo que el tamaño de la T. La afectación ganglionar no fue en nuestra serie factor independiente, posiblemente, aunque no es el objetivo de este estudio, porque las pacientes que tenían ganglios afectados en esos años recibían tratamiento con taxanos en adyuvancia, mientras que las pacientes con ganglios negativos recibían quimioterapias menos efectivas (**Henderson et al. 2003**).

Otro de los objetivos de nuestro trabajo totalmente relacionado con el anterior, fue estudiar la supervivencia libre de enfermedad, pues al tener nuestro estudio un seguimiento corto, quizás pueda ofrecer datos diferentes a la supervivencia global.

Con un seguimiento de 40 meses, han recaído 147 pacientes, que representan el 18,1% de la muestra. Estudiamos este dato en relación al grado de diferenciación y encontramos que las pacientes con tumores mejor diferenciados estaban libres de enfermedad en mayor proporción que las pacientes con tumores peor diferenciados (88,10% vs el 75,17%), siendo estas diferencias estadísticamente significativas. El tamaño del tumor (menor o igual o mayor de 2cm) también mostró diferencias pronosticas en relación a la SLE, siendo esta muy superior para las pacientes con tumores de menor tamaño (90,3% vs 72,8) y estadísticamente estas diferencias también eran significativas ($p=0.000$). Otro tanto se observó respecto a la afectación axilar, las pacientes sin afectación axilar están libres de enfermedad el 88,9% y entre las que sí están afectadas, solo están libres de enfermedad el 72,9% ($p=0.000$), estos datos coinciden con la literatura y es sabido desde hace años, que las pacientes con tumores pequeños, bien diferenciados y sin afectación axilar tienen mejor supervivencia, como reflejan los resultados de nuestra serie (**Carter et al. 1989, Fisher et al. 1993, A.S.C.O.1996, Daly et al. 1999, C.G.H.F.B.C. 2001, Jemal et al. 2009**).

En relación al objetivo fundamental que es relacionar la supervivencia libre de enfermedad con los diferentes subtipos intrínsecos hemos encontrado que, las pacientes con tumores subtipo Luminal A, estaban libres de enfermedad a los 40 meses el 87,1%, las pacientes con tumores subtipo Luminal B el 77%, las que tenían tumores subtipo Basal Like el 67,1% y las que peor supervivencia libre de enfermedad tenían eran las pacientes con HER2 amplificado con el 61%.

Cuando estudiamos las diferencias entre los distintos subtipos encontramos que los tumores Luminal A tienen mejor supervivencia libre de enfermedad que los subtipos Luminal B, Basal Like y HER2 amplificado, (siendo estadísticamente significativa con $p=0.025$, $p=0.000$ y $p=0.000$, respectivamente). Los tumores Luminal B no mostraron diferencias con los tumores Basal Like y HER2 amplificado, tampoco hubo diferencias entre estos dos últimos. Estos datos concuerdan con la mayoría de los autores que, cuando estudian los cuatro subtipos por separado encuentran mejor SLE en las pacientes con tumores subtipos Luminal A, (**Fan et al. 2006, Cheang et al. 2009, Hugh et al. 2009, Bosch et al. 2009, Voduc et al. 2010 y Millar et al. 2009**) y cuando los dividen solo en Basal Like respecto al resto de grupos, estos

últimos tienen peor supervivencia libre de enfermedad que los otros tres grupos en conjunto, (**Dent et al. 2007, Liedtke et al. 2008 y O'Brien et al. 2010**).

Aunque todos los estudios coinciden en la mejor supervivencia de las pacientes con subtipos luminales, sobre todo el Luminal A ((**Fan et al. 2006, Cheang et al. 2009, Hugh et al. 2009, Bosch et al. 2009, Voduc et al. 2010 y Millar et al. 2009**) algunos autores los atribuyen al tratamiento hormonal (**Berry et al. 2006, Azzato et al. 2009**), pero estudios muy recientes y con un gran número de pacientes como el de Blow (**Blows et al. 2010**), no encuentra diferencias entre el patrón de recaída en las pacientes tratadas y sin tratar, lo mismo que en el exhaustivo y pormenorizado estudio, respecto a tratamientos y diferentes factores pronósticos de Cheang (**Cheang et al. 2009**).

Los análisis multivariantes, mostraron que eran factores pronósticos independientes los subtipos moleculares, el tamaño del tumor y la afectación axilar.

Por último hemos estudiado el tipo de recaídas, hoy se sabe que la capacidad de metastatizar y el sitio de la metástasis están muy relacionados con las mutaciones genéticas que van adquiriendo los tumores (**Smid et al. 2006, Minn et al. 2005**). Partiendo de estos datos es lógico pensar que los diferentes subtipos moleculares tengan diferentes patrones de recaída. Hemos considerado las recaídas en dos grandes grupos, viscerales y no viscerales, incluyendo en estas últimas a las pacientes con recaídas óseas, dérmicas, nodulares pulmonares, ganglionares y/o locales. Recayeron como hemos comentado el 18,1% de las pacientes, de estas el 6,9% fueron en vísceras y 11,2% en localización no visceral. Teniendo en cuenta el tamaño del tumor, los tumores mayores tienen tendencia a metastatizar en vísceras y los de menor tamaño en localizaciones no viscerales, siendo sus diferencias significativas. Igualmente, en cuanto al grado de diferenciación, los tumores más indiferenciados son los que metastatizan más en vísceras. No se encontraron diferencias según la afectación axilar.

Teniendo en cuenta los subtipos, hemos observado que en los tumores Luminal A, el 72,6% tienen recaídas no viscerales y el 27,4% viscerales, en el Luminal B el 53,8% no viscerales y el 46,2% viscerales, los subtipos Basal Like hacen metástasis no viscerales el 44% y viscerales el 56% y por último en el subtipo HER2 amplificado, tienen metástasis no viscerales el 56,5% y viscerales el 43,5%; sin embargo desde un punto de vista estadístico, solo hay diferente patrón de recaída en los subtipos luminal A respecto de los Basal Like y no existen diferencias entre el resto de los subtipos, posiblemente porque aun hay pocos eventos y para los eventos óseos sea un seguimiento muy corto. En conjunto coincidimos con los pocos estudios que analizan este punto, teniendo en cuenta los diferentes subtipos, (**Smid et al. 2008, Voduc et al. 2010, Millar et al. 2009**). Los tumores basales recaen más en vísceras y los tumores luminal A tienen más recaídas en huesos, ganglios etc. Otros autores como Dent (**Dent et al. 2007**) y Haffy, (**Haffy et al. 2006**), que comparan los subtipos basales versus el resto de grupos, encuentran que los primeros tienen un patrón de recaída más visceral.

Por tanto podemos concluir a modo de resumen, que en nuestro estudio con 816 pacientes diagnosticadas, tratadas y seguidas por el servicio de Oncología Médica del Hospital Universitario de Salamanca con cáncer de mama locorregional, los subtipos moleculares intrínsecos de los tumores

estudiados mediante inmunohistoquímica y siguiendo los criterios del grupo de PEROU (Carey et al. 2006), la mayoría de las pacientes tienen subtipo Luminal A, seguido en frecuencia por los Luminal B, los Basal Like y los menos frecuentes los del subtipo HER2 amplificado, datos similares a la mayoría de estudios que siguen criterios parecidos, a no ser los subtipos basales que son muy inferiores en nuestra muestra respecto al resto de los trabajos publicados. Sus correlaciones con los diferentes datos demográficos difieren de otros estudios, ya que en el nuestro los subtipos basales tienen una edad similar al resto de los subtipos, lo mismo que sucede con el estado menstrual. Cuando hemos estudiado las correlaciones anatomoclínicas y los diferentes subtipos, nuestros datos con pequeñas variaciones coinciden con la mayoría de las series, así las pacientes con subtipo molecular Luminal A, tienen tumores mas pequeños, con menor afectación axilar y mejor diferenciados que el resto de los subtipos; en nuestro estudio los tumores Luminal B, pese a tener todos amplificación de HER2, tienen más similitudes con los Luminal A que con el subtipo HER2 amplificado como sucede en otros estudios.

Los resultados en relación a los objetivos planteados, que eran conocer si los subtipos moleculares eran factores pronósticos en relación a la supervivencia global y la supervivencia libre de enfermedad y el patrón de recaída, coinciden con la mayoría de los estudios. Observamos que las pacientes con tumores Luminal A y Luminal B, tienen mejor supervivencia global que los subtipos HER2 enriquecido y Basal Like, no existiendo diferencias entre los dos subtipos Luminales, este dato no aparece en los estudios de otros autores. Sin embargo la SLE es mejor en el Luminal A que en todos los otros subtipos, la mayoría de los estudios reflejan la misma afirmación pero de forma inversa, los tumores Basal Like tienen peor supervivencia libre de enfermedad que el resto. Por último el patrón de recaída es diferente entre el subtipo Luminal A y el resto, estas pacientes tienen menos recaídas viscerales que los otros subtipos aunque estadísticamente solo muestra diferencias con el subtipo Basal Like. Es curioso que el subtipo Luminal B, aunque en supervivencia se comporta como subtipo Luminal, no lo hace así ni en la SLE ni en tipo de recaída. Posiblemente, cuando haya mas eventos en el apartado de supervivencia, sí se encuentren también diferencias entre ambos subtipos.

EL análisis multivariable muestra que los subtipos moleculares de cáncer de mama son factor pronóstico independiente en relación a supervivencia global y supervivencia libre de enfermedad.



CONVERSIONES

1ª.- El subtipo intrínseco mas frecuente de cáncer de mama en nuestro medio, determinado mediante criterios IHC, es el luminal A, con una frecuencia cercana al 70%, seguido del subtipo luminal B, el subtipo HER 2 enriquecido y el subtipo Basal-like.

2ª.- Los 4 subtipos intrínsecos luminal A, luminal B, HER 2 enriquecido y Basal-like, no muestran diferencias entre si en relación a los datos demográficos y los factores de riesgo analizados.

3ª.- Los subtipos intrínsecos lumbales, tienen mejor supervivencia global que los subtipos HER 2 enriquecido y Basal-like.

4ª.- El subtipo luminal A tiene mejor supervivencia libre de enfermedad que los otros tres subtipos. Estos tres no mostraron diferencias significativas entre si en relación a la SLE.

5ª.- El análisis multivariable en relación a la supervivencia global muestra que son factores pronósticos independientes en nuestra serie, el tamaño de la T y los subtipos moleculares intrínsecos.

6ª.- El análisis multivariable en relación a la supervivencia libre de enfermedad muestra que son factores pronósticos independientes en nuestra serie la afectación ganglionar, el tamaño de la T y lo subtipos intrínsecos.

7º.- Los subtipos Luminal A, tienen un patrón de recaída diferente al resto de los grupo, predominando en ellos las recaídas de tipo no visceral.



BIBLIOGRAFÍA

- 1.- Abd El-Rehim DM, Pinder SE, Paish CE, et al. Expression of luminal and basal cytokeratins in human breast carcinoma. *J Pathol* 2004;203(2):661-71.
- 2.- ACS. American Cancer Society. Breast Cancer : Facts&Figures. : www.cancer.org; 2009.
- 3.- Albain KS, Allred DC, Clark GM. Breast cancer outcome and predictors of outcome: are there age differentials? *J Natl Cancer Inst Monogr*. 1994(16):35-42.
- 4.- Albertini JJ, Lyman GH, Cox C, et al. Lymphatic mapping and sentinel node biopsy in the patient with breast cancer. *JAMA*, 1996;276(22):1818-22.
- 5.- Altekruse. S F.,Kosary CL., Krapcho M. et al . SEER Cancer Statistics Review, 1975-2007, National Cancer Institute.Bethesda, MD. <http://seer.cancer.gov/csr/1975-2007>. SEER web site 2010.
- 6.- Andersen J, Thorpe SM, King WJ, et al. The prognostic value of immunohistochemical estrogen receptor analysis in paraffin-embedded and frozen sections versus that of steroid-binding assays. *Eur J Cancer* 1990;26(4):442-9.
- 7.- Arriagada R, Le MG, Contesso G, Guinebretiere JM, Rochard F, Spielmann M. Predictive factors for local recurrence in 2006 patients with surgically resected small breast cancer. *Ann Oncol* 2002;13(9):1404-13.
- 8.- Arriagada R, Rutqvist LE, Skoog L, Johansson H, Kramar A. Prognostic factors and natural history in lymph node-negative breast cancer patients. *Breast Cancer Res Treat* 1992;21(2):101-9.
- 9.- ASCO. Statement of the American Society of Clinical Oncology: genetic testing for cancer susceptibility, Adopted on February 20, 1996. *J Clin Oncol* 1996;14(5):1730-6; discussion 7-40.
- 10.- Ascunce N, Ederra M, Barcos A. Situación del cribado del cáncer de mama en España, características y principales resultados de los programas existentes. Madrid: Agencia D'avaluació de tecnologia i recerca medica de Catalunya; 2007.
- 11.- Axelsson CK, Mouridsen HT, Zedeler K. Axillary dissection of level I and II lymph nodes is important in breast cancer classification. The Danish Breast Cancer Cooperative Group (DBCG). *Eur J Cancer* 1992;28A(8-9):1415-8.
- 12.- Azzato EM, Greenberg D, Shah M, et al. Prevalent cases in observational studies of cancer survival: do they bias hazard ratio estimates? *Br J Cancer* 2009;100(11):1806-11.

- 13.- Balmain A, Gray J, Ponder B. The genetics and genomics of cancer. *Nat Genet* 2003;33 Suppl:238-44.
- 14.- Band PR, Le ND, Fang R, Deschamps M. Carcinogenic and endocrine disrupting effects of cigarette smoke and risk of breast cancer. *Lancet* 2002;360(9339):1044-9.
- 15.- Beral V. Breast cancer and hormone-replacement therapy in the Million Women Study. *Lancet* 2003;362(9382):419-27.
- 16.- Berrino F, De Angelis R, Sant M, et al. Survival for eight major cancers and all cancers combined for European adults diagnosed in 1995-99: results of the EURO CARE-4 study. *Lancet Oncol* 2007;8(9):773-83.
- 17.- Berry DA, Cirincione C, Henderson IC, et al. Estrogen-receptor status and outcomes of modern chemotherapy for patients with node-positive breast cancer. *JAMA*, 2006;295(14):1658-67.
- 18.- Berry DA, Cronin K, Plevitis SK et al, . Effect of screening and adjuvant therapy on mortality from breast cancer. *N Engl J Med* 2005;357:1784-92.
- 19.- Bhargava R, Beriwal S, Dabbs DJ, et al. Immunohistochemical surrogate markers of breast cancer molecular classes predicts response to neoadjuvant chemotherapy: a single institutional experience with 359 cases. *Cancer* 2010;116(6):1431-9.
- 20.- Bhargava R, Beriwal S, Striebel JM, Dabbs DJ. Breast cancer molecular class ERBB2: preponderance of tumors with apocrine differentiation and expression of basal phenotype markers CK5, CK5/6, and EGFR. *Appl Immunohistochem Mol Morphol* 2010;18(2):113-8.
- 21.- Bhargava R, Dabbs DJ. Luminal B Breast Tumors are not HER2 positive. *Breast Cancer Res* 2008;10(5):404; author reply 5.
- 22.- Blows FM, Driver KE, Schmidt MK, et al. Subtyping of breast cancer by immunohistochemistry to investigate a relationship between subtype and short and long term survival: a collaborative analysis of data for 10,159 cases from 12 studies. *PLoS Med* 2010;7(5):e1000279.
- 23.- Bolton JL, Thatcher GR. Potential mechanisms of estrogen quinone carcinogenesis. *Chem Res Toxicol* 2008;21(1):93-101.

- 24.- Bosch C, Lain J, Torras M. Et al. Características epidemiológicas e histopatológicas de los subtipos moleculares de cáncer de mama. 30 congreso de SEGO. 2009. [www.sego](http://www.sego.org) 2009.
- 25.- Botha JL, Bray F, Sankila R, Parkin DM. Breast cancer incidence and mortality trends in 16 European countries. *Eur J Cancer* 2003;39(12):1718-29.
- 26.- Boyd NF, Fishell E, Jong R, et al. Mammographic densities as a criterion for entry to a clinical trial of breast cancer prevention. *Br J Cancer* 1995;72(2):476-9.
- 27.- Brisson J, Merletti F, Sadowsky NL, Twaddle JA, Morrison AS, Cole P. Mammographic features of the breast and breast cancer risk. *Am J Epidemiol* 1982;115(3):428-37.
- 28.- Broca P. Traite des tumeurs. Paris: Asselin; 1866.
- 29.- Brody JG, Moysich KB, Humblet O, Attfield KR, Beehler GP, Rudel RA. Environmental pollutants and breast cancer: epidemiologic studies. *Cancer* 2007;109(12 Suppl):2667-711.
- 30.- Burstein HJ, Harris JR and Morrow M. Malignant Tumors on the breast. In: de Vita , Hellman, Rosenberg, editors. *Cancer : Principles & Practice of Oncology* . 8ª ed. . Philadelphia: Lippincott-Williams. pp 1606-1654; 2008.
- 31.- Callagy G, Cattaneo E, Daigo Y, et al. Molecular classification of breast carcinomas using tissue microarrays. *Diagn Mol Pathol* 2003;12(1):27-34.
- 32.- Carey LA, Dees EC, Sawyer L, et al. The triple negative paradox: primary tumor chemosensitivity of breast cancer subtypes. *Clin Cancer Res* 2007;13(8):2329-34.
- 33.- Carey LA, Perou CM, Livasy CA, et al. Race, breast cancer subtypes, and survival in the Carolina Breast Cancer Study. *JAMA* 2006;295(21):2492-502.
- 34.- Carter CL, Allen C, Henson DE. Relation of tumor size, lymph node status, and survival in 24,740 breast cancer cases. *Cancer* 1989;63(1):181-7.
- 35.- CGHFBC. Collaborative group on hormonal factors in breast cancer. Familial breast cancer: collaborative reanalysis of individual data from 52 epidemiological studies including 58,209 women with breast cancer and 101,986 women without the disease. *Lancet* 2001;358(9291):1389-99.

- 36.- Cheang MC, Chia SK, Voduc D, et al. Ki67 index, HER2 status, and prognosis of patients with luminal B breast cancer. *J Natl Cancer Inst* 2009;101(10):736-50.
- 37.- Cheang MC, Voduc D, Bajdik C, et al. Basal-like breast cancer defined by five biomarkers has superior prognostic value than triple-negative phenotype. *Clin Cancer Res* 2008;14(5):1368-76.
- 38.- Chen LL, Nolan ME, Silverstein MJ, et al. The impact of primary tumor size, lymph node status, and other prognostic factors on the risk of cancer death. *Cancer* 2009;115(21):5071-83.
- 39.- Chia S, Norris B, Speers C, et al. Human epidermal growth factor receptor 2 overexpression as a prognostic factor in a large tissue microarray series of node-negative breast cancers. *J Clin Oncol* 2008;26(35):5697-704.
- 40.- Chie WC, Hsieh C, Newcomb PA, et al. Age at any full-term pregnancy and breast cancer risk. *Am J Epidemiol* 2000;151(7):715-22.
- 41.- Choi YH, Ahn JH, Kim SB, et al. Tissue microarray-based study of patients with lymph node-negative breast cancer shows that HER2/neu overexpression is an important predictive marker of poor prognosis. *Ann Oncol* 2009;20(8):1337-43.
- 42.- Clark GM. Do we really need prognostic factors for breast cancer? *Breast Cancer Res Treat* 1994;30(2):117-26.
- 43.- Claus EB, Risch N, Thompson WD. Autosomal dominant inheritance of early-onset breast cancer. Implications for risk prediction. *Cancer* 1994;73(3):643-51.
- 44.- Coleman M, Forman D, Bryant H, et al. Cancer survival in Australia, Canada, Denmark, Norway, Sweden, and the UK, 1995-2007 (the International Cancer Benchmarking Partnership): an analysis of population-based cancer registry data. *Lancet*.
- 45.- Contesso G, Mouriessse H. [Anatomopathologic consensus for defining the prognostic factors of breast cancers]. *Pathol Biol (Paris)* 1990;38(8):834-5.
- 46.- Conzen SD, Grushko TA and Olopade OI .The Molecular Biology of Breast Cancer. In de VIta, Hellman, and Rosenberg´ *Cancer Principles&Practice of Oncology*.. Philadelphia: Lipincott Williams&Wilkins.8^a ed. pp 1595-1605; 2008.

- 47.-Daly M. NCCN practice guidelines.genetic/Familiar high-risk cancer screening. NCCN Proceedings oncology 1999;13:161-83.
- 48.- Dawood S, Gong Y, Broglio K, et al. Trastuzumab in Primary Inflammatory Breast Cancer (IBC): High Pathological Response Rates and Improved Outcome. *Breast J* 2010. 6 Jul. (epub ahead of print)
- 49.- De Ronde JJ, Hannemann J, Halfwerk H, et al. Concordance of clinical and molecular breast cancer subtyping in the context of preoperative chemotherapy response. *Breast Cancer Res Treat*;119(1):119-26.
- 50.- Del Casar JM, Martin A, Garcia C, et al. Characterization of breast cancer subtypes by quantitative assessment of biological parameters: relationship with clinicopathological characteristics, biological features and prognosis. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2008;141(2):147-52.
- 51.- Dent R, Trudeau M, Pritchard KI, et al. Triple-negative breast cancer: clinical features and patterns of recurrence. *Clin Cancer Res* 2007;13(15 Pt 1):4429-34.
- 52.- Donegan WL, Stine SB, Samter TG. Implications of extracapsular nodal metastases for treatment and prognosis of breast cancer. *Cancer* 1993;72(3):778-82.
- 53.- Dumitrescu R. Understanding breast cancer risk--- where do we stand in 2005. *N Jouarnal Cellular and Molecular Medicine* 2005;9:208-21.
- 54.- Easton DF, Bishop DT, Ford D, Crockford GP. Genetic linkage analysis in familial breast and ovarian cancer: results from 214 families. The Breast Cancer Linkage Consortium. *Am J Hum Genet* 1993;52(4):678-701.
- 55.- Elston CW, Ellis IO. Pathological prognostic factors in breast cancer. I. The value of histological grade in breast cancer: experience from a large study with long-term follow-up. *Histopathology* 1991;19(5):403-10.
- 56.- Ewertz M, Duffy SW, Adami HO, et al. Age at first birth, parity and risk of breast cancer: a meta-analysis of 8 studies from the Nordic countries. *Int J Cancer* 1990;46(4):597-603.
- 57.- Fan C, Oh DS, Wessels L, et al. Concordance among gene-expression-based predictors for breast cancer. *N Engl J Med* 2006;355(6):560-9.

- 58.- Ferlay J, Autier P, Boniol M, Heanue M, Colombet M, Boyle P. Estimates of the cancer incidence and mortality in Europe in 2006. *Ann Oncol* 2007;18(3):581-92.
- 59.- Finek J, Holubec L, Jr., Topolcan O, Elgrova L, Skalova A, Pecan L. The importance of prognostic factors in premenopausal women with breast cancer. *Anticancer Res* 2007;27(4A):1893-6.
- 60.- Fisher B, Redmond C, Fisher ER, Caplan R. Relative worth of estrogen or progesterone receptor and pathologic characteristics of differentiation as indicators of prognosis in node negative breast cancer patients: findings from National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project Protocol B-06. *J Clin Oncol* 1988;6(7):1076-87.
- 61.- Fisher ER, Anderson S, Redmond C, Fisher B. Pathologic findings from the National Surgical Adjuvant Breast Project protocol B-06. 10-year pathologic and clinical prognostic discriminants. *Cancer* 1993;71(8):2507-14.
- 62.- Fisher ER, Gregorio RM, Redmond C, Kim WS, Fisher B. Pathologic findings from the national surgical adjuvant breast project. (Protocol no. 4). III. The significance of extranodal extension of axillary metastases. *Am J Clin Pathol* 1976;65(4):439-44.
- 63.- Fitzgibbons PL, Henson DE, Hutter RV. Benign breast changes and the risk for subsequent breast cancer: an update of the 1985 consensus statement. Cancer Committee of the College of American Pathologists. *Arch Pathol Lab Med* 1998;122(12):1053-5.
- 64.- Fitzgibbons PL, Page DL, Weaver D, et al. Prognostic factors in breast cancer. College of American Pathologists Consensus Statement 1999. *Arch Pathol Lab Med* 2000;124(7):966-78.
- 65.- Foulkes WD, Brunet JS, Stefansson IM, et al. The prognostic implication of the basal-like (cyclin E high/p27 low/p53+/glomeruloid-microvascular-proliferation+) phenotype of BRCA1-related breast cancer. *Cancer Res* 2004;64(3):830-5.
- 66.- Foulkes WD, Stefansson IM, Chappuis PO, et al. Germline BRCA1 mutations and a basal epithelial phenotype in breast cancer. *J Natl Cancer Inst* 2003;95(19):1482-5.
- 67.- Futreal PA, Liu Q, Shattuck-Eidens D, et al. BRCA1 mutations in primary breast and ovarian carcinomas. *Science* 1994;266(5182):120-2.
- 68.- Gilcrease MZ, Woodward WA, Nicolas MM, et al. Even low-level HER2 expression may be associated with worse outcome in node-positive breast cancer. *Am J Surg Pathol* 2009;33(5):759-67.

- 69.- Giuliano AE, Kirgan DM, Guenther JM, Morton DL. Lymphatic mapping and sentinel lymphadenectomy for breast cancer. *Ann Surg* 1994;220(3):391-8; discussion 8-401.
- 70.- Goldhirsch A, Glick JH, Gelber RD, Coates AS, Thurlimann B, Senn HJ. Meeting highlights: international expert consensus on the primary therapy of early breast cancer 2005. *Ann Oncol* 2005;16(10):1569-83.
- 71.- Goldhirsch A, Glick JH, Gelber RD, Coates AS, Thurlimann B, Senn HJ. Meeting highlights: international expert consensus on the primary therapy of early breast cancer 2005. *Ann Oncol* 2005;16(10):1569-83.
- 72.- Gómez A., Rodríguez CA. Cáncer de mama. En JJ Cruz Hernández, CA Rodríguez, E del Barco *Oncología Clínica*, 4ª Ed. pp 339-369. Madrid: Nova-sidonia; 2008.
- 73.- Greene F. PD, Fleming I. et al. *AJCC Cancer Staging Manual*. 6ª ed. New York. Springer-Verlag 2002.
- 74.- Haffty BG, Yang Q, Reiss M, et al. Locoregional relapse and distant metastasis in conservatively managed triple negative early-stage breast cancer. *J Clin Oncol* 2006;24(36):5652-7.
- 75.- Haites N. Overview of the clinical genetic in breast cancer. In: Marrison P: *Familial breast and ovarian cancer*. Cambrige: Cambridge University Press; pp : 6- 21; 2002.
- 76.- Han W, Kim SW, Park IA, et al. Young age: an independent risk factor for disease-free survival in women with operable breast cancer. *BMC Cancer* 2004;4:82.
- 77.- Hancock SL, Tucker MA, Hoppe RT. Breast cancer after treatment of Hodgkin's disease. *J Nat Cancer Inst* 1993; 85 (1): 25-31.
- 78.- Harvey JA, Bovbjerg VE. Quantitative assessment of mammographic breast density: relationship with breast cancer risk. *Radiology* 2004;230(1): 29-41.
- 79.- Henderson IC, Berry DA, Demetri GD, et al. Improved outcomes from adding sequential Paclitaxel but not from escalating Doxorubicin dose in an adjuvant chemotherapy regimen for patients with node-positive primary breast cancer. *J Clin Oncol* 2003;21(6):976-83.

- 80.- Hilsenbeck SG, Ravdin PM, de Moor CA, Chamness GC, Osborne CK, Clark GM. Time-dependence of hazard ratios for prognostic factors in primary breast cancer. *Breast Cancer Res Treat* 1998;52(1-3):227-37.
- 81.- Hodgson S. Reproductive system. In :Hodgson S: A practical guide to human genetics. Cambridge: Cambridge University Press. 67-85; 2007.
- 82.- Hsieh P. Molecular mechanisms of DNA mismatch repair. *Mutat Res* 2001;486(2):71-87.
- 83.- Hu Z, Fan C, Oh DS, et al. The molecular portraits of breast tumors are conserved across microarray platforms. *BMC Genomics* 2006;7:96.
- 84.- Hugh J, Hanson J, Cheang MC, et al. Breast cancer subtypes and response to docetaxel in node-positive breast cancer: use of an immunohistochemical definition in the BCIRG 001 trial. *J Clin Oncol* 2009;27(8):1168-76.
- 85.- Hunter DJ, Spiegelman D, Adami HO, et al. Cohort studies of fat intake and the risk of breast cancer a pooled analysis. *N Engl J Med* 1996;334(6):356-61.
- 86.- Ithemelandu CU, Leffall LD, Jr., Dewitty RL, et al. Molecular breast cancer subtypes in premenopausal and postmenopausal African-American women: age-specific prevalence and survival. *J Surg Res* 2007;143(1):109-18.
- 87.- J. C. y L. (Consejería de Sanidad. Junta de Castilla y León). Informe Anual del Sistema Nacional de Salud. Instituto de Información sanitaria. Consejería de Sanidad, Junta de Castilla y León. Ministerio de Sanidad y Consumo. Madrid. 2006.
- 88.- Jemal A, Siegel R, Ward E, Hao Y, Xu J, Thun MJ. Cancer statistics, 2009. *CA Cancer J Clin* 2009;59(4):225-49.
- 89.- Jomppanen M, Gruvberger-Saal S, Kauraniemi P, et al. Basal-like phenotype is not associated with patient survival in estrogen-receptor-negative breast cancers. *Breast Cancer Res* 2007;9(1):R16.
- 90.- Kamangar F, Dores GM, Anderson WF. Patterns of cancer incidence, mortality, and prevalence across five continents: defining priorities to reduce cancer disparities in different geographic regions of the world. *J Clin Oncol* 2006;24(14):2137-50.

- 91.- Kelsey JL, Gammon MD, John EM. Reproductive factors and breast cancer. *Epidemiol Rev* 1993;15(1):36-47.
- 92.- Krag D, Weaver D, Ashikaga T, et al. The sentinel node in breast cancer--a multicenter validation study. *N Engl J Med* 1998;339(14):941-6.
- 93.- Liedtke C, Mazouni C, Hess KR, et al. Response to neoadjuvant therapy and long-term survival in patients with triple-negative breast cancer. *J Clin Oncol* 2008;26(8):1275-81.
- 94.- Liehr JG. Dual role of oestrogens as hormones and pro-carcinogens: tumour initiation by metabolic activation of oestrogens. *Eur J Cancer Prev* 1997;6(1):3-10.
- 95.- Loi S, Haibe-Kains B, Desmedt C, et al. Definition of clinically distinct molecular subtypes in estrogen receptor-positive breast carcinomas through genomic grade. *J Clin Oncol* 2007;25(10):1239-46.
- 96.- Lopez-Abente G, Pollan M, Ardanaz E, Errezola M. Geographical pattern of brain cancer incidence in the Navarre and Basque Country regions of Spain. *Occup Environ Med* 2003;60(7):504-8.
- 97.- Lopez-Avente G, Pollan M, Aragonés N et al. : La situación del cáncer en España, centro nacional de Epidemiología. Ministerio de Sanidad y Consumo. 2009.
- 98.- M.S.C. (Ministerio de Sanidad y Consumo). Instituto de información sanitaria. Mortalidad por cáncer, por enfermedad isquémica del corazón, por enfermedades cerebrovasculares y por diabetes mellitus en España. Ministerio de Sanidad y Consumo. Madrid. www.msc.es; 2006.
- 99.- MacMahon B, Cole P. Is the incidence of breast cancer declining? *Epidemiology* 2008;19(2):268-9.
- 100.- Marchbanks PA, McDonald JA, Wilson HG, et al. Oral contraceptives and the risk of breast cancer. *N Engl J Med* 2002;346(26):2025-32.
- 101.- Martín M, Mahillo E, Llombart-Cussac A, et al. The "El Alamo" project (1990-1997): two consecutive hospital-based studies of breast cancer outcomes in Spain. *Clin Transl Oncol* 2006;8(7):508-18.
- 102.- McGuckin MA, Cummings MC, Walsh MD, Hohn BG, Bennett IC, Wright RG. Occult axillary node metastases in breast cancer: their detection and prognostic significance. *Br J Cancer* 1996;73(1):88-95.

- 103.- McLaren BK, Schuyler PA, Sanders ME, et al. Excellent survival, cancer type, and Nottingham grade after atypical lobular hyperplasia on initial breast biopsy. *Cancer* 2006;107(6):1227-33.
- 104.- McShane LM, Altman DG, Sauerbrei W, Taube SE, Gion M, Clark GM. Reporting recommendations for tumor marker prognostic studies. *J Clin Oncol* 2005;23(36):9067-72.
- 105.- McTiernan A. Behavioral risk factors in breast cancer: can risk be modified? *Oncologist* 2003;8(4):326-34.
- 106.- Medina H, Rojas P. Manejo de la axila en cáncer de mama. *Cirujano General* 2010;32:S1- S4.
- 107.- Menard S, Fortis S, Castiglioni F, Agresti R, Balsari A. HER2 as a prognostic factor in breast cancer. *Oncology* 2001;61 Suppl 2:67-72.
- 108.- Michaelson JS, Chen LL, Silverstein MJ, et al. Why cancer at the primary site and in the lymph nodes contributes to the risk of cancer death. *Cancer* 2009;115(21):5084-94.
- 109.- Michaelson JS, Silverstein M, Sgroi D, et al. The effect of tumor size and lymph node status on breast carcinoma lethality. *Cancer* 2003;98(10):2133-43.
- 110.- Miki Y, Swensen J, Shattuck-Eidens D, et al. A strong candidate for the breast and ovarian cancer susceptibility gene BRCA1. *Science* 1994;266(5182):66-71.
- 111.- Millar EK, Graham PH, O'Toole SA, et al. Prediction of local recurrence, distant metastases, and death after breast-conserving therapy in early-stage invasive breast cancer using a five-biomarker panel. *J Clin Oncol* 2009;27(28):4701-8.
- 112.- Millikan RC, Newman B, Tse CK, et al. Epidemiology of basal-like breast cancer. *Breast Cancer Res Treat* 2008;109(1):123-39.
- 113.- Minn AJ, Gupta GP, Siegel PM, et al. Genes that mediate breast cancer metastasis to lung. *Nature* 2005;436(7050):518-24.
- 114.- Morris GJ, Naidu S, Topham AK, et al. Differences in breast carcinoma characteristics in newly diagnosed African-American and Caucasian patients: a single-institution compilation compared with the National Cancer Institute's Surveillance, Epidemiology, and End Results database. *Cancer* 2007;110(4):876-84.

- 115.- M. S. C. (Ministerio de Sanidad y Consumo) Instituto de información sanitaria: La situación del cáncer en España. Área de epidemiología ambiental y cáncer. Centro nacional de epidemiología. ISCIII. MSC. www.msc.es; 2005.
- 116.- N.C.I. (National Cancer Institute). Five-years relative survival rates by primary site and racial group, SEER Program, 1973-81. En: cancer among blacks and other minorities statistical profiles. US, National Cancer Institute, Bethesda. 1986.
- 117.- Neville AM, Bettelheim R, Gelber RD, et al. Factors predicting treatment responsiveness and prognosis in node-negative breast cancer. The International (Ludwig) Breast Cancer Study Group. *J Clin Oncol* 1992;10(5):696-705.
- 118.- Nielsen TO, Hsu FD, Jensen K, et al. Immunohistochemical and clinical characterization of the basal-like subtype of invasive breast carcinoma. *Clin Cancer Res* 2004;10(16):5367-74.
- 119.- Nixon AJ, Neuberger D, Hayes DF, et al. Relationship of patient age to pathologic features of the tumor and prognosis for patients with stage I or II breast cancer. *J Clin Oncol* 1994;12(5):888-94.
- 120.- O'Brien KM CS, Tse CK, Perou CM. Intrinsic breast tumor subtypes, race and long-term survival in Carolina breast cancer study. *Clin Cancer Res* 2010;16:6100-10.
- 121.- Oh DS, Troester MA, Usary J, et al. Estrogen-regulated genes predict survival in hormone receptor-positive breast cancers. *J Clin Oncol* 2006;24(11):1656-64.
- 122.- Parker JS, Mullins M, Cheang MC, et al. Supervised risk predictor of breast cancer based on intrinsic subtypes. *J Clin Oncol* 2009;27(8):1160-7.
- 123.- Parkin WS, Ferlay J, Suarez B. Cancer Incidence in Five Continents; IARC Cancer base nº 7, 2005.
- 124.- Penrose L. A genetic study of human mammary cancer. *Annals of Eugenics* 1948;14:234-66.
- 125.- Perou CM, Sorlie T, Eisen MB, et al. Molecular portraits of human breast tumours. *Nature* 2000;406(6797):747-52.
- 126.- Perreard L, Fan C, Quackenbush JF, et al. Classification and risk stratification of invasive breast carcinomas using a real-time quantitative RT-PCR assay. *Breast Cancer Res* 2006;8(2):R23.

- 127.- Pharoah PD, Antoniou A, Bobrow M, Zimmern RL, Easton DF, Ponder BA. Polygenic susceptibility to breast cancer and implications for prevention. *Nat Genet* 2002;31(1):33-6.
- 128.- Piccart M, Lohrisch C, Di Leo A, Larsimont D. The predictive value of HER2 in breast cancer. *Oncology* 2001;61 Suppl 2:73-82.
- 129.- Piccart-Gebhart MJ, Procter M, Leyland-Jones B, et al. Trastuzumab after adjuvant chemotherapy in HER2-positive breast cancer. *N Engl J Med* 2005;353(16):1659-72.
- 130.- Pollan M, Pastor-Barriuso R, Ardanaz E, et al. Recent changes in breast cancer incidence in Spain, 1980-2004. *J Natl Cancer Inst* 2009;101(22):1584-91.
- 131.- Raftogianis R, Creveling C, Weinshilboum R, Weisz J. Estrogen metabolism by conjugation. *J Natl Cancer Inst Monogr* 2000(27):113-24.
- 132.- Rampaul RS, Miremadi A, Pinder SE, Lee A, Ellis IO. Pathological validation and significance of micrometastasis in sentinel nodes in primary breast cancer. *Breast Cancer Res* 2001;3(2):113-6.
- 133.- Romond EH, Perez EA, Bryant J, et al. Trastuzumab plus adjuvant chemotherapy for operable HER2-positive breast cancer. *N Engl J Med* 2005;353(16):1673-84.
- 134.- Ronckers CM, Erdmann CA, Land CE. Radiation and breast cancer: a review of current evidence. *Breast Cancer Res* 2005;7(1):21-32.
- 135.- Rosen PP, Groshen S, Saigo PE, Kinne DW, Hellman S. Pathological prognostic factors in stage I (T1N0M0) and stage II (T1N1M0) breast carcinoma: a study of 644 patients with median follow-up of 18 years. *J Clin Oncol* 1989;7(9):1239-51.
- 136.- Rosner B, Colditz GA, Willett WC. Reproductive risk factors in a prospective study of breast cancer: the Nurses' Health Study. *Am J Epidemiol* 1994;139(8):819-35.
- 137.- Rosso S, Gondos A, Zanetti R, et al. Up-to-date estimates of breast cancer survival for the years 2000-2004 in 11 European countries: the role of screening and a comparison with data from the United States. *Eur J Cancer*;46(18):3351-7.
- 138.- Rouzier R, Perou CM, Symmans WF, et al. Breast cancer molecular subtypes respond differently to preoperative chemotherapy. *Clin Cancer Res* 2005;11(16):5678-85.

- 139.- Saccani Jotti G, Bonadonna G. The pathologist and the clinical oncologist: a new effective partnership in assessing tumor prognosis. *Eur J Cancer Clin Oncol* 1989;25(4):585-98.
- 140.- Santen R, Cavalieri E, Rogan E, et al. Estrogen mediation of breast tumor formation involves estrogen receptor-dependent, as well as independent, genotoxic effects. *Ann N Y Acad Sci* 2009;1155:132-40.
- 141.- Shih HA, Couch FJ, Nathanson KL, et al. BRCA1 and BRCA2 mutation frequency in women evaluated in a breast cancer risk evaluation clinic. *J Clin Oncol* 2002;20(4):994-9.
- 142.- Silvestrini R, Daidone MG, Luisi A, et al. Biologic and clinicopathologic factors as indicators of specific relapse types in node-negative breast cancer. *J Clin Oncol* 1995;13(3):697-704.
- 143.- Sivridis E, Giatromanolaki A, Galazios G, Koukourakis MI. Node-related factors and survival in node-positive breast carcinomas. *Breast* 2006;15(3):382-9.
- 144.- Slamon DJ, Leyland-Jones B, Shak S, et al. Use of chemotherapy plus a monoclonal antibody against HER2 for metastatic breast cancer that overexpresses HER2. *N Engl J Med* 2001;344(11):783-92.
- 145.- Smid M, Wang Y, Klijn JG, et al. Genes associated with breast cancer metastatic to bone. *J Clin Oncol* 2006;24(15):2261-7.
- 146.- Smid M, Wang Y, Zhang Y, et al. Subtypes of breast cancer show preferential site of relapse. *Cancer Res* 2008;68(9):3108-14.
- 147.- Smith BL. Approaches to breast-cancer staging. *N Engl J Med* 2000;342(8):580-1.
- 148.- Sorlie T, Perou CM, Tibshirani R, et al. Gene expression patterns of breast carcinomas distinguish tumor subclasses with clinical implications. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2001;98(19):10869-74.
- 149.- Sorlie T, Sexton HC, Busund R, Sorlie D. Predictors of satisfaction with surgical treatment. *Int J Qual Health Care* 2000;12(1):31-40.
- 150.- Sorlie T, Tibshirani R, Parker J, et al. Repeated observation of breast tumor subtypes in independent gene expression data sets. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2003;100(14):8418-23.

- 151.- Sotiriou C, Neo SY, McShane LM, et al. Breast cancer classification and prognosis based on gene expression profiles from a population-based study. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2003;100(18):10393-8.
- 152.- Sotiriou C, Pusztai L. Gene-expression signatures in breast cancer. *N Engl J Med* 2009;360(8):790-800.
- 153.- Tamimi R. Luminal b breast tumors are not HER positive- authors' response. *Breast Cancer Research* 2008;10:405.
- 154.- Tavassoli FA. Atypical hyperplasia: a morphologic risk factor for subsequent development of invasive breast carcinoma. *Cancer Invest* 1992;10(5):433-41.
- 155.- Thümmler K Bristton A and kirc W. Data and Information on Women's Health in the European Union. Directorate General for Elath and Consumers . Drenden, Germany; 2009.
- 156.- Tiezzi DG. Epidemiology of breast cancer. *Rev Bras Ginecol Obstet* 2009;31(5):213-5.
- 157.- Tischkowitz M, Brunet JS, Begin LR, et al. Use of immunohistochemical markers can refine prognosis in triple negative breast cancer. *BMC Cancer* 2007;7:134.
- 158.- Truong PT, Berthelet E, Lee J, Kader HA, Olivotto IA. The prognostic significance of the percentage of positive/dissected axillary lymph nodes in breast cancer recurrence and survival in patients with one to three positive axillary lymph nodes. *Cancer* 2005;103(10):2006-14.
- 159.- Verdecchia A Francisci S, Brenner H, et al. Recent cancer survival in Europe: a 2000-2002 period analys of EURO CARE-4 data. *Lancet Oncology* 2007;8:784-96.
- 160.- Verdecchia A, Santaquilani M, Sant M. Survival for cancer patients in Europe. *Annlist Super Sanita* 2009;45:315-24.
- 161.- Veronesi U, Paganelli G, Galimberti V, et al. Sentinel-node biopsy to avoid axillary dissection in breast cancer with clinically negative lymph-nodes. *Lancet* 1997;349(9069):18647.
- 162.- Voduc KD, Cheang MC, Tyldesley S, Gelmon K, Nielsen TO, Kennecke H. Breast cancer subtypes and the risk of local and regional relapse. *J Clin Oncol*;28(10):1684-91.
- 163.- Weaver DL, Krag DN, Ashikaga T, Harlow SP, O'Connell M. Pathologic analysis of sentinel and nonsentinel lymph nodes in breast carcinoma: a multicenter study. *Cancer* 2000;88(5):1099-107.

- 164.- WHO. World Health Organisation. International Agency for research on Cancer .Monographs programme finds combined estrogen-progestagen contraceptives and menopausal therapy are carcinogenic to humans. July 2005. www.iarc.fr/ENG/Press_Releases/pr167a.html.: WWW.iarc.fr/ENG/Press; 2005.
- 165.- Willett WC. Diet and cancer. *Oncologist* 2000;5(5):393-404.
- 166.- Wo JY, Taghian AG, Nguyen PL, et al. The association between biological subtype and isolated regional nodal failure after breast-conserving therapy. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*;77(1):188-96.
- 167.-Wolff AC, Hammond ME, Schwartz JN, et al. American Society of Clinical Oncology/College of American Pathologists guideline recommendations for human epidermal growth factor receptor 2 testing in breast cancer. *Arch Pathol Lab Med* 2007;131(1):18-43.
- 168.- Wooster R, Bignell G, Lancaster J, et al. Identification of the breast cancer susceptibility gene BRCA2. *Nature* 1995;378(6559):789-92.
- 169.- Yang XR, Sherman ME, Rimm DL, et al. Differences in risk factors for breast cancer molecular subtypes in a population-based study. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2007;16(3):439-43.